

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1925-1926.

N° 7.

La Réaction de Botelho

DANS LE

Séro-Diagnostic du Cancer

ESSAIS SUR SON MÉCANISME CHIMIQUE

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

PAR

RENÉ GUILLEROT

Pharmacien de 1^{re} Classe de la Faculté de Paris

Né à Montluçon, le 4 Septembre 1897

JURY

MM. GRIMBERT, *Président.*
COUTIÈRE, *Professeur.*
HÉRISSEY, *Agrégé.*

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1926

1 Guil.

La Réaction de Botelho
DANS LE
Séro - Diagnostic du Cancer

ESSAIS SUR SON MÉCANISME CHIMIQUE

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1925-1926.

N° 7.

La Réaction de Botelho

DANS LE

Séro-Diagnostic du Cancer

ESSAIS SUR SON MÉCANISME CHIMIQUE

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

PAR

RENÉ GUILLEROT

Pharmacien de 1^{re} Classe de la Faculté de Paris

Né à Montluçon, le 4 Septembre 1897

JURY { MM. GRIMBERT, *Président.*
COUTIÈRE, *Professeur.*
HÉRISSEY, *Agrégé.*

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1926

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. ✱, U I.
E. PERROT, Assesseur, O. ✱, U I.
G. DURSENT, Secrétaire, ✱, U I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut,
C. ✱, U I. Botanique générale.
H. GAUTIER, O. ✱, U I. Chimie minérale.
RADAIS, O. ✱, U I. Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut
C. ✱, U I. Chimie organique.
PERROT, O. ✱, U I. Histoire naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, ✱, U I. Zoologie.
BERTHELOT, Membre de l'Institut, U I. Physique.
GRIMBERT, ✱, U I. Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, U I. Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. ✱, U I. Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ✱, U I. Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, U I. Chimie analytique.
GORIS, ✱, U I. Pharmacie galénique.

Doyens honoraires : MM. GUIGNARD, C. ✱, U I., et H. GAUTIER, O. ✱, U I.

Professeurs honoraires : MM. MOUREU, G. O. ✱, U I. et A. VILLIERS, ✱, U I.

CHARGÉS DE COURS

MM. TASSILLY, ✱, U I. Minéralogie.
MARC HONNORAT, ✱, U I. Législat. et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, U I. Cryptogamie.
GUÉRIN, ✱, U I. Botanique.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, ✱, U I. || MM. TASSILLY, ✱, U I. || MM. LAUNOY, ✱, U A.
DAMIENS, U A. || GUÉRIN, ✱, U I. || HÉRISSEY, ✱, U I.
LUTZ, ✱, U I. ||

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ✱, U I. Chimie générale.
COUSIN, ✱, U I. Chimie analytique.
SOUÈGES, U I. Micrographie.
LEROUX, U I. Physique.
DEVAL, U I. Microbiologie.
FRANÇOIS, ✱, U I. Trav. génér. de 4^e année.

Bibliothécaire en chef : M. BEAULIEUX, U I.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

ALEXANDRE GUILLEROT

PHARMACIEN DE LA FACULTÉ DE PARIS

Mon premier maître en pharmacie.

A MA MÈRE

Bien faible témoignage de ma reconnaissance et de ma profonde affection.

MEIS ET AMICIS

A M. GRIMBERT

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse, en
respectueux hommage.*

A M. LE DOCTEUR BOTELHO

CHEF DU LABORATOIRE DU CANCER A L'HÔTEL-DIEU

*Hommage de notre reconnaissance
et de notre dévouement.*

A M. LE DOCTEUR MAURICE GUÉRIN

ASSISTANT AU LABORATOIRE DU CANCER
DE L'HÔTEL-DIEU

*Mon ami d'enfance, mon camarade
d'études, mon guide au labora-
toire du cancer.*

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

Introduction

La connaissance du sang « milieu vivant » par excellence a toujours préoccupé les chercheurs. « Le sang est une chair coulante » dit BORDEU. « Il a le caractère de ce qui a vie », ajoute DENIS, médecin de Commercy, dans son traité de 1838. C'est, qu'en effet, le sang reflète avec exactitude l'état physiologique et anatomo-pathologique de la cellule : son analyse apporte une preuve irréfutable du parfait équilibre de l'organisme ou des modifications importantes de ses humeurs ; la pratique a pleinement confirmé les prévisions. De tout temps, médecins et chimistes ont compris la valeur des recherches hématiques. A notre époque, elles sont devenues de pratique courante dans le diagnostic de la syphilis (réaction de BORDET-WASSERMANN et de HECHT) dans celui de la fièvre typhoïde (réaction de WIDAL) et dans celui de la tuberculose (réaction de BORDET et GENGOU).

Dans le séro-diagnostic du cancer, les recherches ont été également très nombreuses, car, au dire des auteurs qui se sont préoccupés de la question, le plasma sanguin charrie des anticorps dirigés contre la cellule cancéreuse ou le produit de sa macération. Nous énumérerons simplement les différentes méthodes antérieures à celle que

nous nous proposons d'étudier dans notre travail, la dernière en date, la « séro-réaction de Botelho ».

Il est des procédés qui ont utilisé les propriétés lytiques du sérum cancéreux ou au contraire le pouvoir qui lui est conféré de retarder certaines conditions lytiques. KELLING (27) tenta la réaction d'un sérum cancéreux en présence des hématies d'embryon de poulet et obtint cinquante pour cent de réactions positives. Sur 265 sérums cancéreux, 119 dissolvaient des globules de poule, tandis que sur 300 non cancéreux, 11 seulement possédaient cette propriété.

ELSBURG (12) inocula à des sujets suspects une dilution d'hématies à 10 % et remarqua en six ou sept heures l'apparition d'une tumeur douloureuse. SIMON et THOMAS (49) se sont attachés aux « carcinolysines » ; ils ont étudié le pouvoir de destruction du sérum cancéreux sur la cellule néoplasique. FREUND et KAMINER (15) ont proposé une séro-réaction basée sur le principe que les cellules cancéreuses, détruites par le sérum normal, le sont moins par le sérum cancéreux.

Le pouvoir réducteur du sérum et ses propriétés fermentatives ont été étudiées par THOMAS et BINETTI (53). Le bleu de méthylène en solution hydro-glycérinée est utilisé comme réactif indicateur, en présence d'un extrait lipoidique de carcinome ; la décoloration du bleu de méthylène par rapport à la proportion d'extrait est plus rapide avec un sérum cancéreux qu'avec un sérum normal.

Enfin, il ne nous reste plus qu'à citer la méthode fermentative d'ABDERHALDEN (1), basée sur l'absence dans

le sérum cancéreux des réactions diastatiques normales : d'une technique compliquée, elle est la source d'erreurs. FRANCK et ROSENTHAL* ne lui ont pas ménagé leurs critiques et RUBINSTEIN (46) conclut de son étude sur cette réaction, que « seul l'avenir élucidera les relations existant entre la nature des composants sériques intervenant dans la réaction et leurs rapports avec les corps d'immunité ». C'est dire que la méthode d'ABDERHALDEN n'offre pas à la pratique courante, un moyen très sûr ni très commode de diagnostic.

Enfin, quelques auteurs ont cherché à déceler dans le sérum cancéreux un complexe antigène-anticorps. Ces réactions ont été classées par LAVEDAN (31), sous le nom de modifications d'ordre « physico-chimiques ou physico-biologiques ».

Dans cet ordre, la réaction de l'Epiphanine de WEICHARDT (58), celle de FISCHER (14) et la Meiostagmine d'ASCOLI et IZAR (4) sont à retenir. La réaction de WEICHARDT, décrite en 1908 par son auteur, est basée sur l'influence exercée par une combinaison antigène-anticorps sur une réaction physique : deux solutions colorées, l'une acide, l'autre alcaline, sont mises en présence d'extraits de tumeurs ou de sérums cancéreux. A l'aide de la phénolphthaléine, comme indicateur et au moyen de la sonde ou de la baryte on détermine le point neutre, on ajoute ensuite de l'antigène. La formation du complexe antigène-anticorps cancéreux provoque un déplacement de la réaction du milieu précédemment neutre. En Al-

(*) Cité par RUBINSTEIN (46).

lemagne, la réaction de Weichardt eut son heure de succès, mais l'inconstance de ces résultats l'a fait abandonner.

Un principe de physique admet qu'un liquide mis au contact d'un gaz est soumis à une force appelée « tension superficielle » et TRAUBE a démontré que le nombre de gouttes pour un volume déterminé de liquides était variable. L'abaissement de cette tension superficielle a été constatée au cours de l'évolution cancéreuse par ASCOLI et IZAR et leur méthode a été décrite sous le nom de « méiostagmine ». Izar attribue la nature de sa réaction dans les tumeurs à l'enrichissement des sérums cancéreux, en certains lipoides.

Plus intéressante est la réaction proposée par FISCHER (14). Cet auteur admet l'hypothèse d'un équilibre particulier entre les deux constituants albuminoïdes de l'organisme : sérine et globuline ; la globuline enroberait l'albumine. Il a donné à cet équilibre le nom de « Prostaxie ». Sa méthode est basée sur la recherche de l'équilibre de cette prostaxie, au moyen de la gélatine à 20/00 rendant l'albumine plus coagulable, la globuline moins. Les coagulants habituels, tel que l'alcool, exerceraient alors leur action avec moins d'intensité sur du sérum dilué dans de l'eau physiologique. Cette observation se traduira par un précipité plus léger dans le sérum gélatiné, prouvant ainsi la protection de l'albumine par la globuline. Si elle manque, le sérum gélatiné précipitera beaucoup plus.

Fischer a pu conclure que la prostaxie existait dans le

cancer et la cachexie, constante et précoce, et établir sa méthode.

Enfin, il ne nous reste plus qu'à citer les méthodes de DUNGERN et de KOTTMAN ; ces réactions, étant des réactions de précipitations colloïdales, se rapprochent par leur nature de celle de Botelho. KOTTMAN (29) fait usage des albumino-métaux. Il constate que du sérum cancéreux mis au contact d'une combinaison colloïdale et d'albumine cancéreuse dans laquelle le fer a été dissimulé, la ferralbumine laisse échapper son fer plus difficilement qu'avec du sérum normal.

Cette technique a donné de bons résultats à MARQUÊS DOS SANTOS*, auquel 108 sérums de non cancers ont donné 94 négatifs et 14 positifs ; 41 sérums cancéreux, 36 positifs et 5 négatifs.

DUNGERN* prend comme antigène du sang de paralytiques généraux qu'il traite par l'acétone pur. Il obtient avec du sérum de cancéreux non chauffé pur, ou chauffé à 54° et additionné de 0,2 cc. de Na OH N/50 une réaction donnée ni par le sérum syphilitique, ni par le sérum tuberculeux.

Nous nous proposons maintenant d'étudier une nouvelle découverte dans le domaine de la biologie cancéreuse « la Séro-réaction de Botelho ».

Nous avons pendant de longs mois poursuivi nos recherches au laboratoire du Cancer à l'Hôtel-Dieu, dirigé par M. Botelho. Nous étudierons successivement :

(*) Cité par Lavedan (31).

1°) La réaction de Botelho et ses différentes phases,

2°) Leur manuel opératoire,

3°) Nous nous attacherons à démontrer la valeur de la réaction corrective, par rapport aux précédentes techniques employées, tant au point de vue clinique qu'au point de vue chimique,

4°) Nous chercherons à expliquer son mécanisme chimique et nous poserons des conclusions pouvant servir tant au chimiste qu'au clinicien.

CHAPITRE I

Historique de la Réaction de Botelho

L'historique de la réaction et l'origine de ses recherches en sérologie cancéreuse nous ont été fournies par Botelho *lui-même*.

« Les premiers essais de Séro-diagnostic du Cancer, tentés par moi, dit-il, remontent au début de l'année 1917. Parti du fait qu'il existe dans le torrent circulatoire des Cancéreux des produits de macération cellulaire de la tumeur et quelquefois des débris, j'ai cherché à mettre en présence, *in vitro*, des Sérums Cancéreux et non Cancéreux, pris comme témoins, avec des solutions considérées comme ayant un pouvoir électif sur la cellule cancéreuse tels que les éosinates, l'électro-cuprol, l'électro-sélénium, etc.

Ces recherches n'ayant donné aucun résultat, j'ai poursuivi des essais analogues à l'aide de quelques réactifs employés en technique histologique pour la recher-

che du glycogène : j'ai utilisé des solutions de tannin, des solutions glyco-iodo-iodurée, et gomme-iodo-iodurée. Avec cette dernière solution, j'ai remarqué que la plupart des Sérums Cancéreux mis à ma disposition donnaient un précipité très net, contrairement aux Sérums normaux qui, en proportion égale, ont laissé le réactif transparent ; la Réaction primitive était donc une réaction séro-gomme-iodo-iodurée qui a subi sans cesse des perfectionnements, pour aboutir à une réaction acido-iodo-iodurée, mes recherches ayant prouvé que c'était à l'acidité de la gomme qu'il fallait attribuer les phénomènes différentiels constatés entre deux méthodes : l'une utilisant l'emploi de la gomme, l'autre celui de l'acide ».

Botelho proposa alors diverses formules où l'acide remplaçait la gomme : ce fut alors :

- 1°) La citro-réaction, avec l'acide citrique.
- 2°) L'acido-ammo-réaction, avec l'ammoniaque.
- 3°) L'azoto-réaction, avec l'acide azotique.

I. Citro-réaction

Nous avons utilisé au début de nos travaux la technique primitive de Botelho, nécessitant l'emploi de 3 solutions :

- 1°) Solution citrique formolée :

Acide citrique.....	5 gr.
Aldéhyde formique.....	1 c ³
Eau physiologique à 7,5 0/00.....	100 c ³

La présence de formol, employé à dose très faible, ne joue aucun rôle dans la réaction, mais assure la conservation du réactif.

2°) Solution iodo-idurée :

Iode bi sublimé.....	1 gr.
Iodure de potassium.....	2 »
Eau distillée.....	210 »

La préparation de cette solution, pour en obtenir de bons résultats, demande à être conduite de la façon suivante : Broyer dans un mortier l'iode avec l'iodure de potassium, ajouter quelques gouttes d'eau, broyer de nouveau et agiter pour favoriser la dissolution, verser dans un flacon, rincer le mortier à l'eau distillée et compléter à 210 c³.

3°) Solution d'eau physiologique à 7,5 o/oo.

Pour obtenir le sérum à examiner, le sang doit être recueilli aseptiquement et par ponction veineuse, de préférence à jeun ; le placer dans un endroit frais et laisser transsuder le sérum pendant 24 heures. Recueillir le sang en totalité par aspiration à la pipette Pasteur s'il est clair ; s'il est trouble, il est préférable de le centrifuger en totalité. Nous conseillons même de le centrifuger chaque fois que cela sera possible.

Ces précautions sont importantes, car il nous a été donné de voir la réaction se modifier selon que le sang a été recueilli par ponction veineuse ou par ventouses scarifiées et selon que l'examen était fait avant ou après

les 24 heures nécessaires ou que le sujet était à jeun ou non. On sait, en effet, que la digestion influe sur la composition du sang, celui-ci charrie au moment du travail digestif, des substances troublant le sérum ou le rendant opalescent même après centrifugation ; de plus, ces matériaux sont susceptibles de constituer des causes d'erreur dans des déterminations biologiques ultérieures. D'ailleurs, d'autres auteurs ont fait au sujet de travaux analogues, les mêmes remarques. KREIBICH (30) a comparé systématiquement la teneur en albumine du sang prélevé dans la veine ou par ventouse et il a parfois remarqué des différences assez appréciables. Le sang prélevé dans la veine, donnait un chiffre plus élevé que celui recueilli par scarification au même moment que la ponction.

Manipulation :

Dans un tube à essai de 12 cm. de hauteur environ et de 1 cm. de diamètre, mettre 2 c³ de la solution citrique formolée, puis 0,5 c³ de sérum à examiner *dilué de moitié* avec de l'eau physiologique à 7,5 0/00.

Agiter et mélanger le tout.

Ajouter 0,7 c³ de la solution iodo-iodurée, il se forme un précipité qui disparaît presque toujours après agitation, sinon il s'agit d'un cancer ; on ajoute 0,2 c³ de solution iodo-iodurée : un nouveau précipité se produit, agiter. S'il se dissout après agitation, le contenu du tube redevient limpide, la réaction est négative, il s'agit d'un sérum non cancéreux.

S'il ne se dissout pas, au contraire, le contenu du tube

reste louche, opaque aux rayons lumineux par transparence, la *réaction est positive, il s'agit d'un sérum cancéreux*.

Résultats :

Nous avons expérimenté par cette technique 205 sérums dont 35 cancéreux et 170 non cancéreux.

Avec les sérums non cancéreux, nous avons observé :
67 réactions négatives, soit 40 % de réactions justes.

Avec les sérums cancéreux :

30 réactions positives, soit 86 % environ de réactions justes.

Ces résultats viennent confirmer les faits publiés en 1923 par PAUL et MAURICE GUÉRIN (20) à la Société de Biologie. De plus, les résultats de nos expériences ont été contrôlés au point de vue du diagnostic, histologiquement et à l'autopsie par le Docteur MAURICE GUÉRIN.

D'autres auteurs ont utilisé cette citro-réaction, mais avec une légère variante.

1° WILBOUCHEVITCH (59), sur 50 sérums cancéreux étudiés, donne la statistique suivante :

4 douteux, 39 positifs, 7 négatifs.

2° Sur 140 témoins, CABANIS et FOULQUIER (7) trouvent des résultats voisins et concluent que « la réaction de Botelho, dans les affections cancéreuses sera positive dans une moyenne de 75 à 77 % des cas.

Et sur 122 sérums de contrôle, ils constatent 25 réactions positives donc 20,5 % d'erreurs.

3° De même, SABRAZÈS et MURATET (47) ont publié leurs résultats sous le titre « Contribution à l'étu-

de la réaction de Botelho, dans le sérum sanguin des cancéreux et des sujets atteints de leucémie chronique et subaiguë », étude portant sur 32 sérums dont la réaction fut : positive 25 fois, soit 78 % de réactions justes ; négative 7 fois, soit 21 % d'erreur.

Sur des sérums de contrôle (79 cas), la réaction s'est montrée sept fois positive, soit 9 % d'erreur.

SABRAZÈS et MURATET ont même pu dépister des cas de cancers latents et insoupçonnés sur des sérums destinés à la réaction de Wassermann.

4°) Puis BLOQUIER DE CLARET et BRUGAIROLLE (6) publiaient un article sur « Le séro-diagnostic du cancer par la réaction de Botelho ».

Leur étude a porté sur 22 sérums cancéreux qui ont donné 17 réactions positives, soit 77,2 %.

D'autre part, sur 88 sérums de malades divers non cancéreux, ils constatent 19 réactions positives, soit 21,7 % d'erreurs.

5°) A. REMOND et A. SENDRAIL (41) ont, en 1924, publié leurs résultats obtenus par la même technique.

Sur 19 sérums cancéreux, ils ont eu 15 résultats positifs, soit 78,9 % de réactions justes.

Et sur 42 sérums non cancéreux, ils obtiennent 5 réactions positives et 32 négatives, soit 12 % d'erreurs seulement.

6°) PELET (37), dans sa thèse de 1924 (Lausanne) a avec cette même réaction citrique :

Sur 150 sujets non cancéreux, 120 réactions négatives, soit 80 %.

Sur 24 sujets cancéreux (avec contrôle histologique), 14 positives, soit 58 %.

7°) Dernièrement FRY (16) apporte les statistiques faites sur une centaine de cas :

Sur 44 témoins, 30 furent négatifs, soit 69 %.

Sur 57 cancers, 40 furent positifs, soit 70 %.

8°) DIAMANT (10), dans sa thèse de Paris 1925, trouve sur 23 cancers, 16 réactions positives, soit 70 %.

9°) ROSSI (44) ayant expérimenté la réaction de Botelho sur 41 sérums de femmes atteintes de cancers de l'utérus a eu des résultats nettement positifs dans 75 % des cas, négatifs dans 10 % des cas, douteux dans 15 %.

Ayant ensuite essayé la réaction chez les cachectiques (15 cas), il obtient 30 % de positifs.

Tous ces auteurs obtiennent donc des résultats très voisins.

Total : 211 réactions positives sur 286 cas de cancers, soit 73 %.

On peut être surpris d'un tel écart entre cette statistique 73 % et celle que nous avons obtenue personnellement, 86 % ; c'est que la technique que nous avons utilisée est un peu différente de celle qu'emploient ces divers auteurs : le réactif citrique que nous employons est à base d'eau physiologique à 7,5 0/00, alors que les autres auteurs utilisent l'eau distillé.

D'ailleurs, nous nous sommes assurés de ce fait en utilisant parallèlement les deux solutions. La statistique s'est trouvée modifiée comme suit :

Sur 15 sérums cancéreux nous avons obtenu :

11 réactions positives, soit 74 % au lieu de 86 %.

Conclusion :

La réaction citrique de Botelho a donc fourni d'assez bons résultats entre les mains des différents auteurs.

Dans les cas de cancers on obtient :

73 % de réactions justes avec le réactif à l'eau distillée et jusqu'à 86 % avec le réactif à l'eau physiologique que nous avons utilisé, mais il persiste une ombre du fait de réactions positives obtenues avec des sérums non cancéreux.

Notre statistique porte sur des sujets hospitalisés, donc en état de déséquilibre humoral marqué et non pas sur des sérums de sujets en bon état général.

Les résultats de la réaction citrique sont d'autant meilleurs que l'on s'adresse à des états pathologiques où le diagnostic de cancer se pose cliniquement : c'est d'ailleurs dans ce but que cette réaction a été établie par Botelho.

II. Azoto-réaction

Basé sur une assez longue expérience, Botelho a proposé une nouvelle technique dans laquelle l'acide citrique est remplacé par l'acide azotique.

La technique de cette réaction est, à peu de chose près, identique à celle de la précédente citro-réaction ;

1°) On utilise la solution :

Acide azotique à 36°B ($D = 1,332$) : 1 cm³.

Eau physiologique à 7,5 0/00 : 100 cm³.

2°) Une solution iodo-iodurée identique à celle utilisée auparavant.

3°) Le sérum recueilli avec les mêmes précautions qu'auparavant et qu'on utilise *pur*, non dilué, donc simplification de ce temps.

Mode opératoire :

Botelho a été amené à utiliser deux techniques un peu différentes.

1°) La première technique que nous désignerons sous les initiales (A. Z. R. 1) consistait à placer dans un tube à réaction : 4 cm³ de réactif azotique, puis 0,5 de sérum pur non dilué ; on agite ; on ajoute alors le réactif iodo-ioduré par fractions de 0,5 cm³, puis 0,5 et enfin 0,2 en agitant dans chaque intervalle jusqu'à dissolution du précipité.

Pour un total de $0,5 + 0,5 + 0,2 = 1$ cm³ 2 de réactif iodé, la réaction est terminée, l'interprétation des résultats se fait comme pour la citro-réaction.

2°) Dans la seconde technique que nous désignons sous les initiales (A. Z. R., 2) on utilise seulement 3 cm³ de réactif azotique et 0,5 de sérum pur. La solution iodo-iodurée s'ajoute par fractions de 0,5, puis 0,5 enfin 0,3 totalisant 1 cm³ 3.

Par ailleurs, les manipulations sont identiques à celles de la technique première.

Résultats :

Avec la première (A. Z. R., 1) nous avons étudié 238 sérums, dont 205 sérums non cancéreux donnant 37 réactions positives, soit 18 % d'erreurs seulement.

Et 33 sérums cancéreux donnant 19 réactions positives, soit 58 %.

Suivant la seconde méthode (A. Z. R., 2) - (3 cm³ de réactif azotique et 0,5 de sérum pur, 1 cm³ 3 de solution iodo-iodurée par fractions) notre étude a porté sur 209 sérums dont 84 cancéreux.

Cas de cancers : sur 84 cancers, 51 résultats positifs, soit 60 % de réactions justes.

Cas de non cancers : sur 125 sérums, 85 cas négatifs donc 69 % de réactions justes.

A notre connaissance, un seul auteur a poursuivi des recherches selon la méthode de l'azoto-réaction (A. Z. R., 1), c'est le Docteur GASTON ELBAZ (11) qui a publié ses résultats dans sa thèse de Doctorat de la Faculté d'Alger.

Le docteur ELBAZ (11) a étudié 300 sérums dont 50 cancéreux.

Sur ces 50 cancers, il a obtenu 40 réactions positives, soit 80 % de réactions justes ; et sur 250 sérums non cancéreux, il a obtenu seulement 13 cas positifs, soit 5 % d'erreurs.

Ces résultats sont donc nettement meilleurs que ceux obtenus par nous-mêmes. S'agit-il pour cet auteur d'une série heureuse ou inversement malheureuse pour notre part ?

C'est possible, surtout si on songe à l'élasticité des statistiques, il ne faut pas leur demander plus de précision qu'elles ne sauraient donner et se montrer d'un rigorisme trop absolu. Ne faut-il pas chercher la cause de ce fait paradoxal dans une nuance de manipulation :

d'autant qu'avec la même technique on peut obtenir des résultats un peu différents selon la vitesse avec laquelle on ajoute le réactif iodé. C'est ainsi que plus on attend entre chaque fraction de réactif iodé plus la réaction se trouve sensibilisée.

De même pour (A. Z. R., 2) un auteur, PEYRE (38) a fait quelques recherches :

Sur 42 cancers il a 25 réactions positives soit 60 %.

Sur 13 non cancers, 12 réactions négatives, soit 92 %.

En résumé cette Azoto-Réaction permet donc d'éliminer une grande partie des erreurs par fausses réactions positives dans les sérums non cancéreux, 5 à 31 %, contre 9 à 60 % dans la « Citro-Réaction ». Par contre elle donne un pourcentage moindre de réactions positives dans les cas de Cancers 60 à 80 % au lieu de 73 à 86 % dans la Citro-Réaction.

Aussi Botelho avait-il songé à sensibiliser sa réaction par addition d'ammoniaque : c'est le point de départ de l'Ammo-Réaction.

III. Ammo-réaction

Botelho a donc utilisé à un certain moment et avant la technique avec correction réfractométrique, qui retiendra notre attention, une réaction à base d'ammoniaque dont la technique est la suivante.

Mettre dans un tube à réaction 0,5 de sérum pur plus une goutte d'ammoniaque mesurée avec une pipette donnant 30 gouttes d'ammoniaque au c^3 . Après agitation on ajoute 3 c^3 de réactif azotique, on agite de nouveau et on

verse la solution iodo-iodurée par fractions (0,5 + 0,5 + 0,3) ; le reste de la technique s'effectue comme pour l'azoto réaction.

Pour éviter les inconvénients dus aux différences de calibrage des pipettes, dans une seconde technique, Botelho met dans le tube 0,5 de sérum pur avec 0,5 d'une solution au 1/20 d'ammoniaque à 22° Baumé ; la suite de la technique est identique à la précédente.

Contrairement aux prévisions les résultats de l'Ammono-Réaction d'abord très encourageants, chez l'homme tout au moins ont été inférieurs à ceux des techniques précédentes. Chez l'animal, entre les mains d'ITCHIKAWA (24), dans le cancer expérimental du lapin, elle a donné un pourcentage de réaction favorable.

Avec l'Ammono-Réaction (première technique) nous avons obtenu chez l'homme sur 12 sérums cancéreux, 6 sérums positifs soit 50 % de succès. Sur 14 sérums non cancéreux, 4 sérums positifs soit 28 % d'erreur.

Avec la seconde technique nous avons obtenu :

Sur 41 cancers : 26 réactions positives, soit 63 % de succès.

Sur 55 non cancers : 24 réactions positives, soit 44 % d'erreur.

Conclusion :

De nos multiples essais nous ne retiendrons que deux réactions :

1°) La « Citro-Réaction » donnant un bon pourcentage 77 % dans le cancer mais avec des erreurs dans les cas de non cancer environ 15 %.

2^b) « L'Azoto-Réaction » avec un pourcentage moins bon dans le cancer 71 %, mais avec des erreurs moindres dans les cas de non cancer environ 9 %.

CHAPITRE II

Méthode de Séro-Diagnostic avec correction réfractométrique

Pour des raisons que nous exposons au chapitre suivant, Botelho utilise actuellement une méthode qui consiste à ramener tous les sérums à un même index réfractométrique et cela sans apporter de modifications à la technique décrite sous le nom d'azoto-réaction.

Cette dernière méthode comporte deux techniques.

A) La première, dite *hétéro-correction*, consiste à diluer les sérums hyperalbumineux dans l'eau physiologique et à évaporer les sérums hypoalbumineux, cela dans des proportions telles que la quantité d'albumine totale utilisée dans la réaction soit ramenée à 80 o/oo.

B) La seconde méthode de correction dite *auto-correction* consiste à employer une quantité de sérum, calculée selon son index réfractométrique, telle que la dose d'albumine agissant dans la réaction soit ramenée à 80 o/oo.

I. Méthode de correction dite hétéro-correction

1°) THÉORIE DE LA CORRECTION.

Cette correction sera possible par deux procédés différents selon que l'index réfractométrique (I) du sérum étudié est supérieur ou inférieur à 80 0/00.

1^{er} cas : I > 80 : on utilise la dilution du sérum. Soit

I = équivalent en albumine de l'index réfractométrique du sérum.

I' = équivalent en albumine de l'index réfractométrique de base (80).

N = quantité de sérum en c³.

X = quantité d'eau physiologique à 7,5 0/00 en c³.

Les quantités d'albumine devant être équivalentes, on a :

$$I \times N = I' (N + X).$$

$$\text{Soit } X = N \frac{(I-I')}{I'} = \frac{N I - 80 N}{80}$$

Soit la formule générale :

$$\frac{\Delta}{80} = \frac{X}{N}$$

Dans laquelle :

$$\Delta = I - I'$$

2° cas : I < 80. On utilise l'évaporation du sérum.

On a une équation équivalente à celle du premier cas :

$$I \times N = I' (N - X).$$

$$\text{Soit } X = N \frac{(I'-I)}{I'} = \frac{N 80 - I N}{80}$$

2°) TECHNIQUE.

1^{er} cas : $I > 80$. On ajoute à une quantité fixe de sérum (1, 6 c³ de sérum), une quantité d'eau physiologique déterminée par la formule générale :

$$x = N \frac{I-80}{80} = 1,6 \frac{I-80}{80}$$

Si le sérum a un index de $I = 90$ par exemple, on utilisera $x = 1,6 \times \frac{90-80}{80} = 0,2$ c³ d'eau physiologique.

On agite de façon à obtenir un mélange homogène et on s'assure par une lecture réfractométrique que le sérum est bien à 80. S'il se trouvait au-dessus ou au-dessous de 80, on le dilue un peu plus ou on l'évapore par tâtonnement jusqu'à ce qu'il soit à 80 (en tenant compte de la correction de température selon la technique indiquée plus loin). On prélève alors 0 cc. 5 du mélange et on opère comme pour l'azoto-réaction ordinaire.

2^e cas : $I < 80$. On utilise l'évaporation au taux voulu par tâtonnements. Pour cela on met 2 c³ environ de sérum dans une cupule de verre de 4 à 5 centimètres de diamètre que l'on place à l'étuve à 37° pendant quelques minutes. Après un laps de temps d'autant plus long que le sérum était à un index plus bas, on prélève le sérum pour déterminer son index réfractométrique après avoir eu soin de le laisser refroidir avant de pratiquer son examen.

S'il est à $I = 80$, on pratique la réaction ordinaire. S'il est à $I < 80$, on le replace à l'étuve pour continuer l'éva-

puration. S'il est à $1 > 80$ on le dilue, jusqu'à ce qu'il titre 80 o/oo d'albumine, en employant l'eau distillée.

On prélève alors 0 cc. 5 du sérum corrigé et on suit la technique ordinaire.

II. Méthode de correction dite auto-correction

1° THÉORIE DE LA CORRECTION.

Dans un but de simplification une formule élémentaire donne par une simple division la quantité de sérum à utiliser. Elle est fournie par la relation suivante :

$$I \times Q = K \times N \text{ ou}$$

$$Q = N \times \frac{K}{I}$$

Q = quantité de sérum à utiliser.

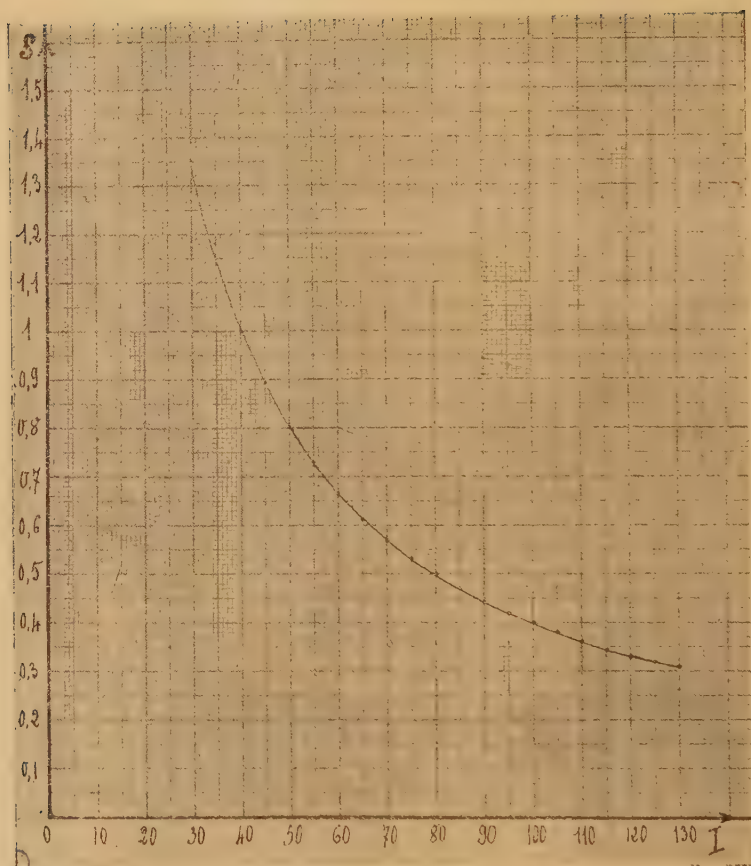
$I = \left\{ \begin{array}{l} \text{équivalent en albumine de l'index réfractomé-} \\ \text{trique du sérum.} \end{array} \right.$

$K = \left\{ \begin{array}{l} \text{équivalent en albumine de l'index réfractomé-} \\ \text{trique de base (80).} \end{array} \right.$

N = quantité de sérum utilisé dans la réaction type (0,5).

$$\text{D'où } Q = \frac{40}{I}$$

Nous avons d'ailleurs établi la courbe représentative de cette fonction (portion d'hyperbole). Il suffit de s'y reporter quand on a déterminé l'index du sérum pour obtenir immédiatement la quantité de sérum à utiliser.



Courbe d'auto-correction

I = équivalent en albumine de l'index réfractométrique du sérum.

S = quantité de sérum à utiliser.

2° TECHNIQUE.

Ces corrections étant faites on reprend la technique de l'azoto-réaction (2^e méthode A. Z. R. 2), c'est-à-dire réactif azotique 3 c³, auquel on ajoute non plus 0,5 c³ de sérum, mais la quantité indiquée par la formule $Q = \frac{40}{I}$ ou mieux directement par la courbe en fonction de l'index réfractométrique du sérum à examiner.

Résultats.

Nous donnons ci-joint les résultats que nous avons obtenus avec la réaction corrigée.

Résultats de la réaction corrigée :

	Positif	Négatif	Total
Sarcomes	4	0	4
Cancer de la prostate.....	1	0	1
Cancer de la prostate et du rein.....	0	1	1
» de la tête du pancréas.....	1	1	2
» ampoule de Vater.....	1	0	1
» recto-sigmoïdien	2	0	2
» côlon ascendant (récidive)...	1	0	1
» de l'estomac.....	5	0	5
» de l'œsophage.....	1	0	1
» du rhino-pharynx.....	1	0	1
» de la langue.....	3	1	4
» du plancher buccal.....	2	0	2
» de la lèvre.....	1	0	1
» de la face.....	3	1	4
» du sein.....	6	0	6

» » (f. intra-canaliculaire)	0	1	1
» » (forme squirrheuse)...	0	1	1
» du col de l'utérus.....	19	5	54
» du corps de l'utérus.....	0	1	1
» kyste malin de l'ovaire.....	1	1	2
» ovaire	1	0	1
» du doigt (récidive).....	0	1	1
» de la paroi abdominale.....	1	0	1
» généralisé	1	0	1
» métastase ganglionnaire de cancer latent.....	1	0	1
	—	—	—
	56	14	70

Soit 80 % de réactions justes.

Dans les non cancers sur :

100 cas : 87 réactions négatives.

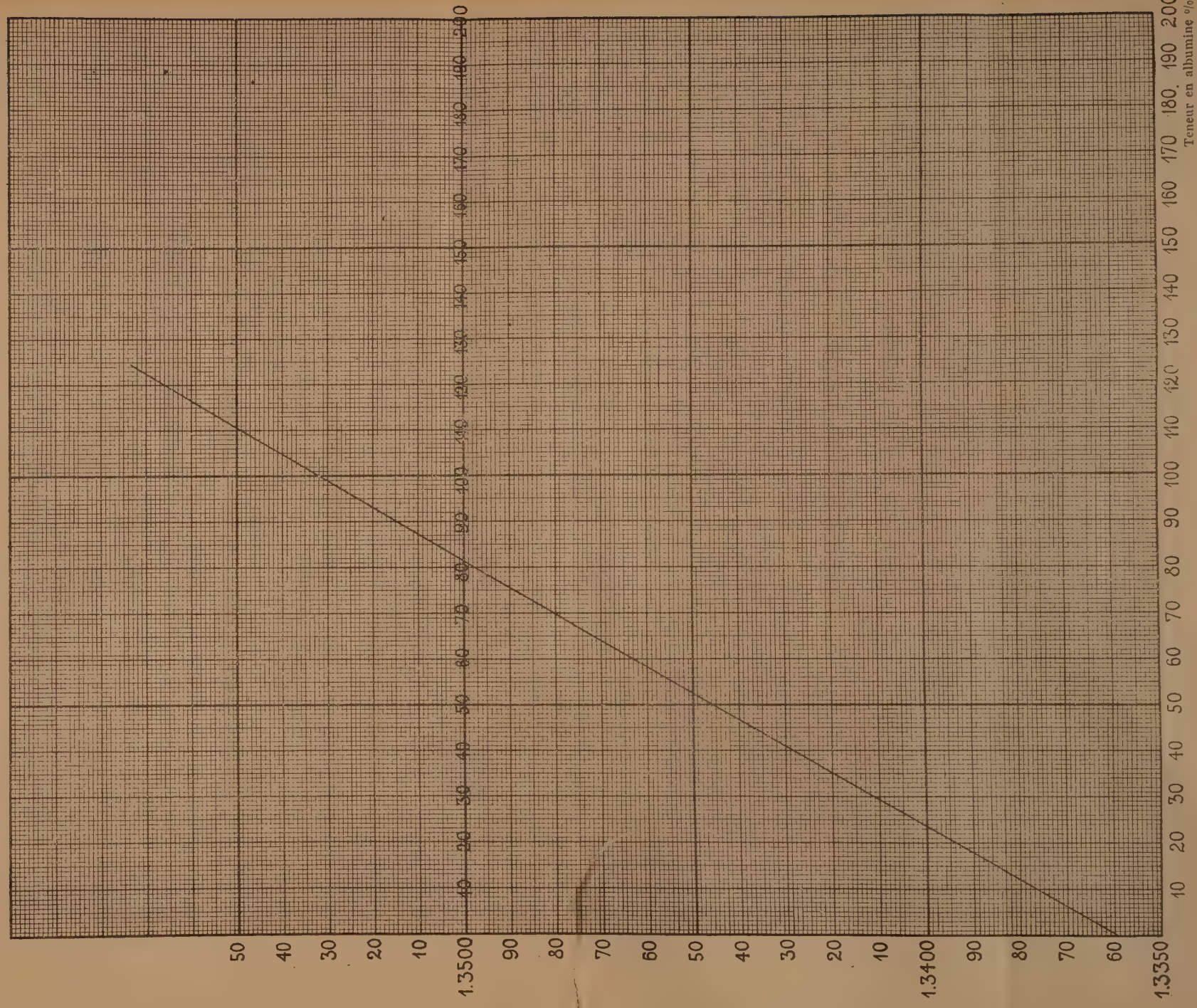
Technique de l'examen réfractométrique des sérums

Pour l'examen réfractométrique des sérums nous avons utilisé le réfractomètre de Féry grand modèle :

« Cet appareil se compose : 1°) d'un colimateur ; 2°) d'une lunette ; 3°) d'une cuve à face parallèle dont la cavité prismatique triangulaire reçoit le liquide à examiner. Cette cuve baigne elle-même dans une cuve, à face parallèle également, contenant de l'eau distillée. L'axe optique est déterminé par une fente à réticule portée par le colimateur et un réticule en croix de Saint-André contenu dans la lunette. La cuve prismatique se meut transversalement sur une échelle graduée munie

Graphique de l'équivalence entre l'index réfractométrique et la teneur en albumine totale

Index Réfractométrique.



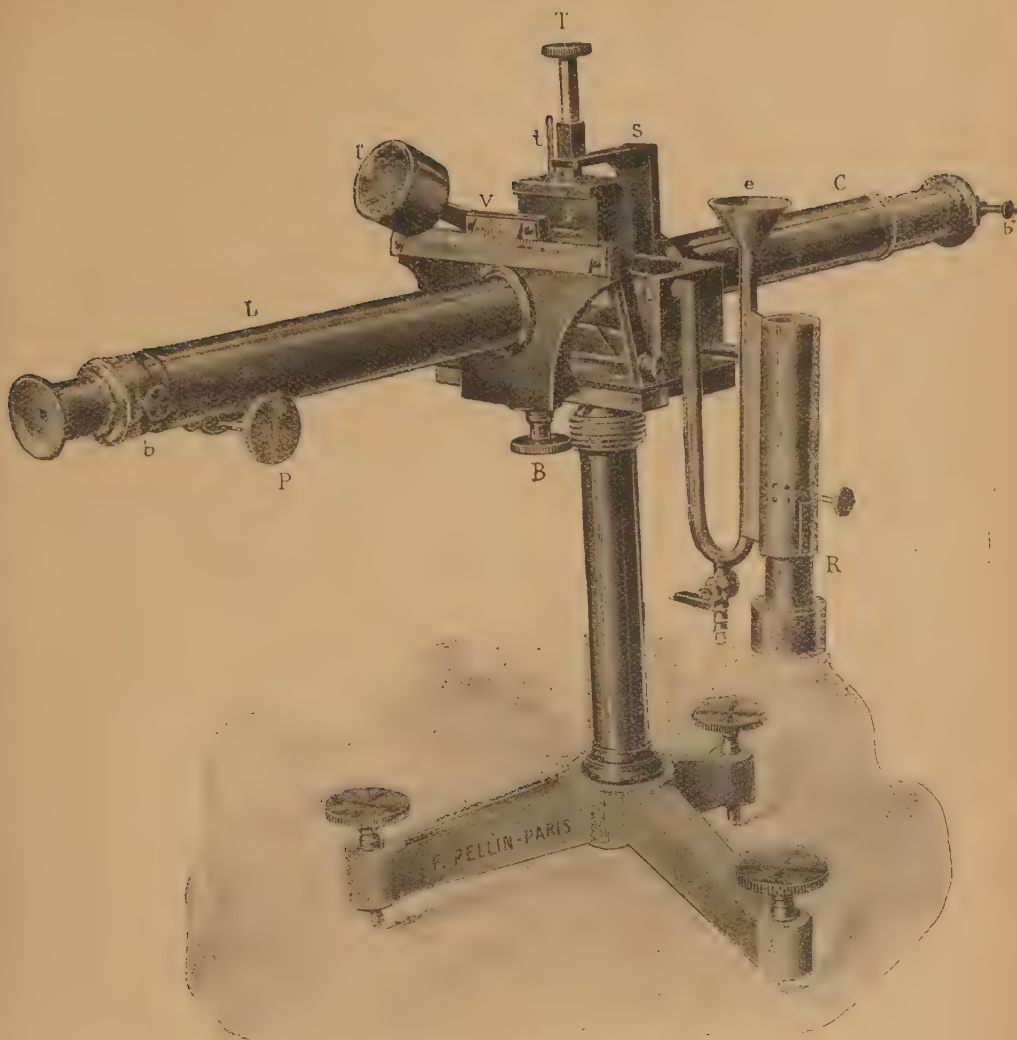


Fig. 1

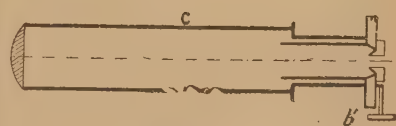
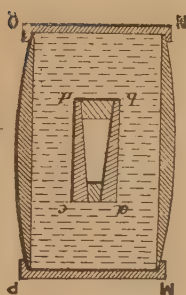
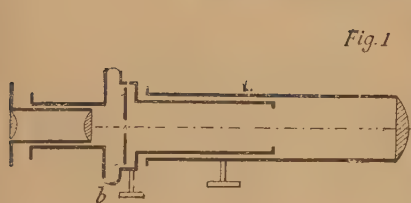


Fig. 3

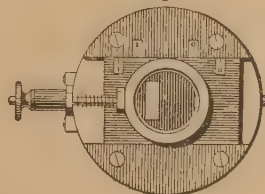


Fig. 2



d'un vernier. L'examen se fait à la lumière monochromatique du sodium.

Le rayon émis traverse la cuve et se réfracte proportionnellement à la teneur en colloïde du liquide qui y est contenu. Il faut après le réglage de l'appareil déplacer la vis transversale jusqu'à ce que le repère de l'axe optique coïncide de nouveau ».

De plus, Reiss* a calculé que chaque fois qu'une solution albumineuse augmente de 1 % d'albumine, son indice de réfraction s'élève à 0,00172. Donc une fois déterminé : 1° l'indice de réfraction de l'eau distillée (1,3332 à 17°5) ; 2° celui des cristalloïdes (0,00277) ; 3° en divisant par 0,00172, indice de réfraction d'une solution albumineuse à 1 %, on obtient ainsi la quantité globale (sérine + globuline) contenue dans 100 c³ de sérum à examiner.

D'ailleurs, on peut établir un graphique ci-joint où la détermination de la teneur en albumine du sérum en fonction de l'index réfractométrique trouvé est fourni par simple lecture. La relation entre ces deux valeurs est d'ailleurs très simple, correspondant à l'équation $Y = A X$. La représentation est donc une ligne droite.

Ces données sont, il est vrai, établies pour une température fixe de 17°5 ; elles varient en effet sensiblement en même temps que la température. Il est donc nécessaire de faire la détermination des index sériques à des températures identiques si l'on veut obtenir des résultats comparables.

(*) Cité par Saint-Girons (48).

Deux techniques sont utilisables dans ce but :

A) Soit étudier tous les sérums en les maintenant à une température constante (37° par exemple) grâce au thermo-siphon.

B) Soit en prenant l'index du sérum tel quel et en faisant une correction selon la température du sérum. Nous avons adopté dans nos recherches cette deuxième méthode dont nous voulons préciser les détails.

Des constatations expérimentales ont permis d'établir qu'avec une approximation suffisante on pouvait considérer que toute variation de 1° entraînait une variation de 0,0001 dans l'index réfractométrique. Ainsi un sérum dont l'index est à 1,3490 pour une température de 20° , aura un index de 1,3480 pour une température de 30° .

Par ailleurs nous avons pris une température de base à laquelle nous avons ramené toutes les lectures réfractométriques : c'est $17^{\circ}5$, chiffre choisi par Reiss pour dresser la table des équivalences entre index et teneur en albumine.

Donc pour tous les sérums à examiner, l'index réel (r) sera en fonction de la température (θ) et de l'index lu sur le vernier (ρ).

$$r = \rho + 0,0001 (\theta - 17^{\circ}5)$$

Pratiquement il faut avoir soin avant de faire la lecture réfractométrique, d'attendre quelques minutes pour que la température entre la cuve du sérum et la cuve à eau se soit stabilisée ; c'est à ce moment seulement qu'il faut déterminer la température du sérum.

Discussion sur les limites d'erreur dans la détermination réfractométrique des sérums

Différents auteurs se sont préoccupés de la concordance entre les résultats de la détermination pondérale et réfractométrique des albumines totales sériques. Strubell (52), Groeber, Chajes (51), Achard (2), Wagner (56), admettent des chiffres correspondant avec ceux des pesées. Pour Chiray et Demanche (8), l'erreur se fait tantôt en plus, tantôt en moins et l'on ne saurait se fier au réfractomètre. Laudat et Vaucher (55) ont repris la question et ils concluent que les résultats donnés par la méthode réfractométrique sont très voisins et peuvent être considérés comme identiques à ceux donnés par la méthode pondérale : les différences n'atteignant jamais des chiffres supérieurs à 0,5 ou 0,6 pour 0/00. Puech (40) a comparé dans 6 cas les résultats donnés par les deux méthodes et a trouvé qu'ils ont été rigoureusement concordants.

Forts de ces conclusions, nous pouvons admettre une détermination ordinaire de 1 à 2 0/00 près. Cette erreur ne peut modifier la réaction pour laquelle nous avons fait usage de cette méthode.

Si dans les sérums normaux il n'y a pas de différence appréciable dans le dosage par méthode pondérale ou réfractométrique de l'albumine, il est des cas pathologiques où des substances étrangères peuvent amener une variation et provoquer des erreurs plus étendues : ainsi dans le sérum des brightiques grâce à l'urée, chez celui des diabétiques en raison du glucose, chez celui des icté-

riques en raison de leur grande proportion de pigments biliaires, dans les sérums lactescents et surtout en présence des sérums hémolysés ou le chiffre de l'indice de réfraction est nettement supérieur à la pesée. Dans ces cas à l'exception de l'hémolyse, qu'il est nécessaire de rejeter, les résultats de la réaction seront plus ou moins approchés à moins que la teneur exacte en urée, glucose, etc., soit connue et qu'on fasse une correction appropriée.

Discussion sur la valeur des méthodes correctives (auto ou hétéro)

Les réactions correctives que nous avons utilisées parallèlement nous ont donné presque toujours des résultats concordants. Cependant, dans quelques cas, nous avons pu constater de légères différences entre les deux réactions.

Nous avons pu les expliquer par une erreur de détermination réfractométrique, minime il est vrai, à la base de la méthode dite hétéro.

En effet, nous avons vu que la teneur en albumine des sérums en fonction de leur index réfractométrique, selon le tableau de Reiss, était basée sur la constance de leur composition en éléments salins, qui constituent à la base de l'index un abattement de 0,00277.

Or, au cours des manipulations du sérum (dilution ou évaporation) on modifie sa teneur en cristalloïdes. Cette modification entraîne dans la lecture réfractométrique

finale une erreur, facile à éviter par les considérations suivantes.

Puisque la teneur constante en cristalloïdes représente un index de 0,00277, cette quantité, par la dilution ou l'évaporation du sérum, variera d'une valeur propor-

tionnelle à $\frac{K}{I}$, formule dans laquelle :

$K = 80$ (équivalent en albumine de l'index de base).

$I =$ équivalent en albumine de l'index du sérum.

La teneur nouvelle du sérum en cristalloïdes après dilution ou évaporation sera donc :

$$0,00277 \frac{K}{I}$$

Dès lors, l'index auquel il faudra corriger le sérum, pour qu'il contienne 80 0/00 d'albumine réellement, sera non plus 1,34973, mais un index (R) variable selon la teneur primitive en albumine du sérum (I) et fourni avec une approximation suffisante par la relation élémentaire.

$$R = 1,3332 + 0,00277 \frac{K}{I} + 0,000172 K$$

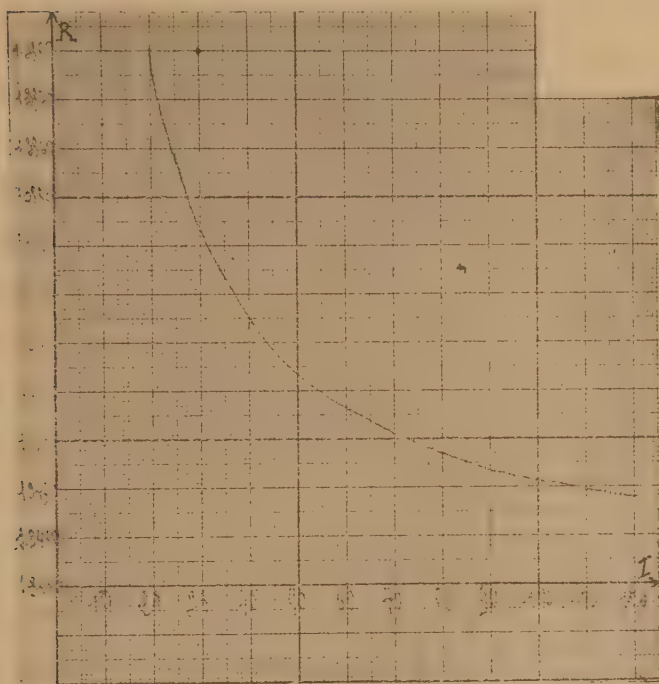
formule dans laquelle 1,3332 = index de l'eau distillée ;
0,000172 = index correspondant à 1 gr. 0/00 d'albumine,

$$\text{Soit } 1,3332 + 0,00277 \frac{80}{I} + 0,000172 \times 80$$

$$\text{Formule finale : } R = 1,34696 + 0,00277 \times \frac{80}{I}$$

C'est une fonction de la forme $Y = \frac{A X + B}{X}$

dont il est facile de tracer la représentation graphique.
En utilisant la courbe ci-jointe une simple lecture suffit
à trouver l'index auquel on doit ramener le sérum en
fonction de sa teneur primitive en albumine.



Courbe corrective pour l'hétéro-correction

I = teneur en albumine.

R = index réfractométrique correctif.

LA RÉACTION DE BOTELHO CHEZ L'ANIMAL.

Nous devons signaler que des recherches ont été poursuivies avec ces différentes techniques par quelques auteurs, pour étudier les modifications humorales au cours du cancer chez l'animal.

REMOND et SENDRAIL (41) ont utilisé la citro-réaction selon la technique publiée par WILBOUCHEVITCH (59) ; ils ont obtenu les résultats suivants :

a) *Réactions positives* : dans un épithélioma de la joue chez un chien, une tumeur mixte de la mamelle chez une chienne, un sarcome du maxillaire chez un cheval.

b) *Réactions négatives* : dans un cas de myxome du péritoine chez le chien et un polype vaginal chez une chienne.

De même, ITCHIKAWA (24-25) a étudié, au laboratoire du cancer à l'Hôtel-Dieu, les modifications de la réaction chez des lapins qu'il cancérisait par des badigeonnages au goudron de houille. Dans une première série d'expérience, il a utilisé les techniques à l'ammoniaque (amino-réaction) et a obtenu des résultats bien supérieurs à ceux chez l'homme.

16 lapins normaux ont tous donné une réaction négative, sauf une lapine en état de gestation.

31 lapins cancérisés ont donné :

1° Dans les cancers au début (10 cas) : 7 réactions positives.....	70 %
2° Dans les cancers achevés (9 cas) : 9 réactions positives.....	100 %

3° Dans les cancers en régression :

a) 2 semaines après (7 cas) : 6 réactions	
positives	86 %
b) 8 semaines après (5 cas) : 1 réaction	
positive	20 %

Ultérieurement il a utilisé la méthode azotique d'auto-correction, qui a fourni des résultats plus précis et plus positifs : elle a permis en particulier d'obtenir des réactions positives dans les cas de cancer en régression tant que le tissu cancéreux existait encore, alors que les résultats étaient nettement négatifs quand le tissu cancéreux se transformait en corne cutanée.

RETEL (42) a étudié, suivant une technique un peu spéciale « la micro-réaction », les troubles humoraux survenant chez le rat au cours de greffes cancéreuses. Il prétend avoir obtenu des résultats intéressants par cette pratique du Botelho modifiée.

CHAPITRE III

Essais sur le Mécanisme chimique de la Réaction

Nous venons d'étudier la réaction de Botelho ou mieux les différentes phases de la réaction proposée par Botelho pour le séro-diagnostic du cancer. Nous avons vu les résultats acquis par les différents auteurs et ceux qu'elles nous ont donnés personnellement. Nous nous proposons maintenant dans ce chapitre d'étudier le mécanisme chimique de cette réaction, nous défendant d'aborder une critique minutieuse de ce mécanisme, notre but consistant uniquement à nous éclairer sur le sens des résultats qu'elle apporte.

Principe pratique de la méthode

La réaction de Botelho est basée sur ce fait important qu'aux doses utilisées, dans sa technique, il faut pour obtenir un précipité stable, une dose de réactif iodé

moindre dans le sérum cancéreux que dans le sérum normal : autrement dit, le sérum normal précipité à un taux de réactif iodé plus élevé que le sérum cancéreux.

Il existe entre ces deux variétés de sérum un écart iodé important : 0,3 c³ environ dans la citro-réaction et 0,6 c³ dans l'azoto-réaction.

Mais le taux de précipitation de ces sérums n'est pas absolu, par exemple avec l'azoto-réaction, il existe des sérums cancéreux qui précipitent déjà pour 1 c³ de réactif iodé alors que certains ne précipitent qu'à 1,2 c³ ou 1,3 c³, plus rarement au-delà : inversement on peut voir des sérums non cancéreux précipiter au-dessous de 1,8 c³ dès 1,3 c³ parfois, plus rarement au-dessous de ce taux. Il convient donc de déterminer un point critique, c'est-à-dire une dose intermédiaire de réactif iodé qui permette de capter, sinon la totalité, du moins le maximum de sérums cancéreux, tout en laissant échapper le plus possible de sérums non cancéreux. L'expérience et les données de Botelho lui ont démontré que cette dose convenable voisine à 1,3 c³, point qui caractérise cette réaction.

Donc, quelles que soient les modifications que l'on apporte à la dose de réactif, on se trouvera pris entre ces deux alternatives : augmenter le pourcentage de réactions positives dans le cancer, mais en augmentant le nombre des fausses réactions positives ou bien éliminer les fausses réactions avec des sérums non cancéreux, mais en laissant échapper une plus grande proportion de sérums cancéreux.

Nous avons vu, pour les réactions sans méthode corrective que : dans le premier cas, on obtient une réaction,

comme la « citro-réaction », qui fournit dans les cas de cancer un pourcentage élevé, 86 % de résultats positifs, mais qui donne également un pourcentage assez fort de fausses réactions, 60 % dans les cas de non cancers ; inver-

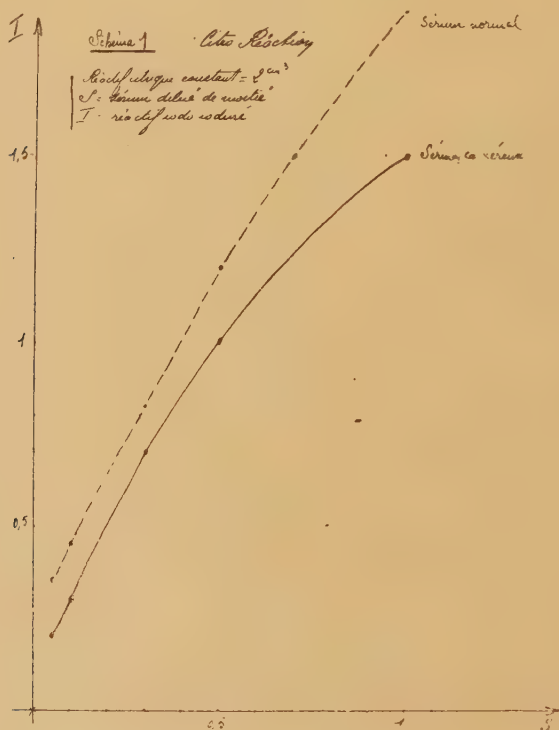


Schéma 1

sement, l'emploi de l'azoto-réaction (A. Z. R., 2) diminue notablement la statistique des fausses réactions, d'où (13 % d'erreur), mais elle abaisse également le pourcentage des cancers.

Mais, en dehors des doses fixes de réactifs utilisées dans la réaction, il peut être intéressant de rechercher les courbes de précipitation d'un sérum selon les variations

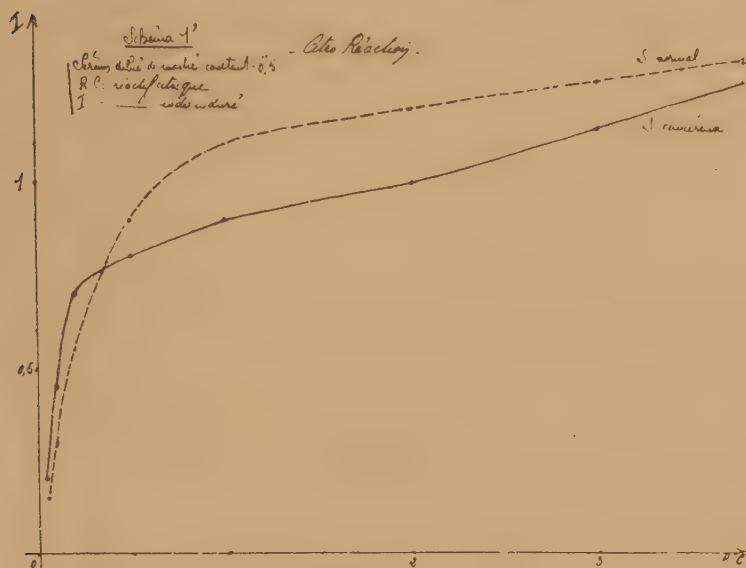


Schéma 1'

d'un des éléments (sérum ou solution acide), l'autre restant fixe. Pour cela, il suffit de chercher un précipité stable en faisant varier le sérum ou le réactif acide, le 3^e élément restant fixe.

Les résultats obtenus sont indiqués dans les schémas ci-joints :

Citro-réaction (schémas 1 et 1').

Azoto-réaction (schémas 2 et 2').

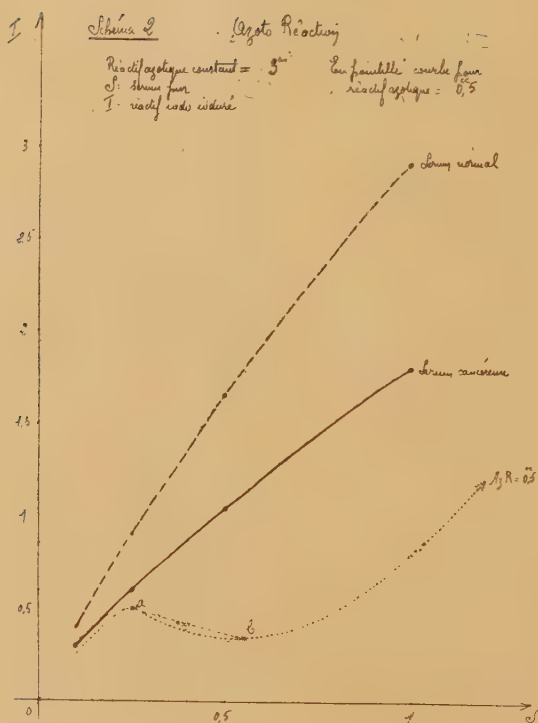


Schéma 2

Plusieurs conclusions s'imposent après l'examen de ces graphiques :

1° Un sérum quelconque précipite pour un taux de réactif iodé d'autant plus faible que la quantité de sérum est moindre, la dose de réactif acide restant constante.

Donc la dose de réactif iodé est directement proportionnelle à la dose de sérum.

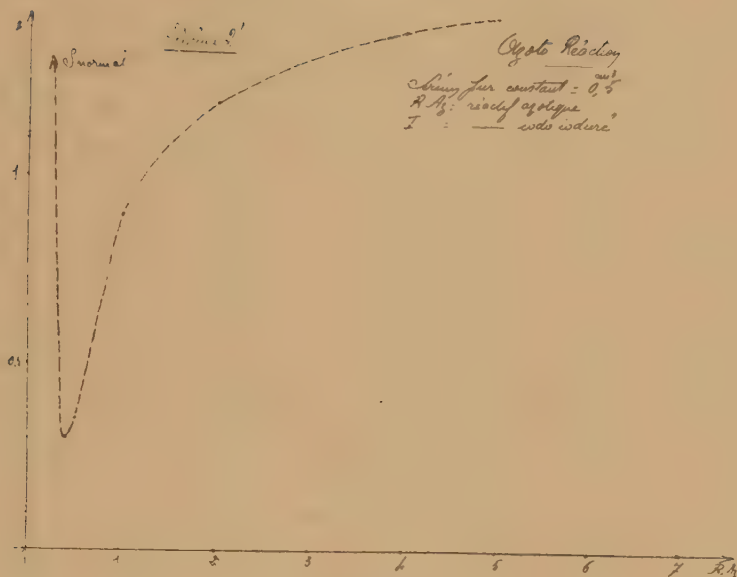


Schéma 2'

Cette loi reste vraie quel que soit l'acide employé (acide citrique, acide azotique), bien que la courbe soit un peu différente selon l'acide, comme le montrent les graphiques.

Elle reste exacte dans des limites assez étendues, quand on emploie les doses de réactifs acides utilisées pour la réaction (C. R. = 2 c³ ; A. Z. R. 2 = 3 c³), mais quand on fait varier ce 3^e facteur on constate dans certaines zones des modifications importantes, qui échappent à cette loi. En particulier, la courbe obtenue avec 0,5 c³ de réaction azotique (courbe en pointillé sur le graphique schéma 2) présente une double inflexion ; dans la zone intermédiaire ab , la loi se trouve donc inversée.

D'ailleurs, des recherches systématiques faites avec des doses progressives d'acide azotique montrent la constance de cette zone d'inversion et son augmentation d'amplitude avec l'accroissement du réactif acide (voir schéma 2").

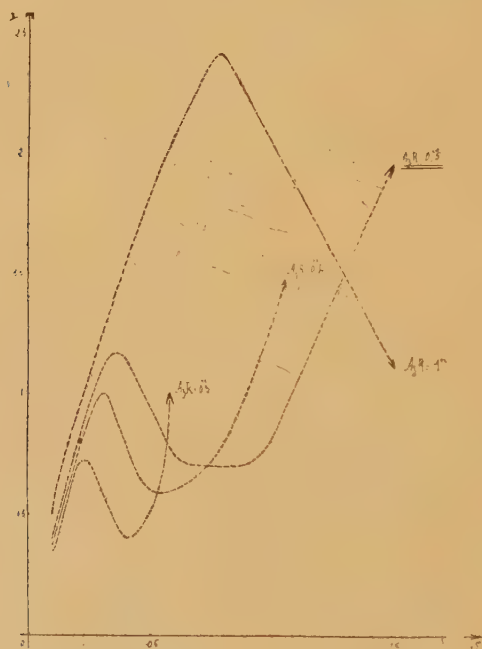


Schéma 2 "

2° Un sérum quelconque précipite pour un taux de réactif iodé d'autant plus faible que la quantité de réactif acide est moindre, la dose de sérum restant fixe.

Donc, la dose de réactif iodé est directement proportionnelle à la dose de réactif acide.

Mais là encore, cette loi comporte quelques restrictions.

Avec le réactif azotique existe une zone où la courbe présente un point d'inversion (voir schéma 2'), au-delà duquel la loi ne s'applique plus, même pour la dose de réaction 3 c³.

Il est intéressant de noter que ce point semble correspondre au point de neutralité.

Par contre, la courbe obtenue avec l'acide citrique ne présente pas les mêmes particularités, tout au moins dans les limites analogues à celles étudiées pour le réactif azotique.

Il faut peut-être rattacher cette différence au simple fait que l'acide citrique est un acide à faible dissociation alors que le réactif azotique est à dissociation presque complète.

Rôle des acides

La courbe de précipitation en fonction de la quantité de réactif acide pouvait faire supposer, a priori, que l'augmentation ou la diminution d'acidité du sérum entraînait une variation parallèle du taux de précipitation iodé.

En réalité, les phénomènes sont plus complexes, du fait qu'en faisant varier le réactif acide on fait varier 3 éléments à la fois, l'eau, le chlorure de sodium et l'acide. Il faut donc se placer dans des conditions expérimentales telles que seul le facteur acidité varie.

En opérant ainsi, nous avons alors constaté que les modifications dans le taux de précipitation sont différentes selon la nature de l'acide ajouté.

C'est ainsi que les acides organiques faibles (acide acétique, citrique, lactique, oxalique), élèvent le taux de précipitation, alors que les acides minéraux forts le diminuent pour un certain taux, quand on les ajoute au réactif acide ordinaire quel qu'il soit, acide citrique ou azotique.

Inversement, quand on diminue l'acide dans le réactif utilisé, on obtient une élévation du taux de précipitation iodé avec l'acide azotique et abaissement avec l'acide citrique.

Ces faits expliquent les résultats superposables obtenus par les divers auteurs qui ont utilisé parallèlement à l'acide citrique d'autres acides faibles : acide lactique (Cabanis et Foulquier), acide oxalique (Blouquier de Claret et Brugairolle), tous les autres acides organiques, employés à doses convenables donneraient des résultats analogues.

Rôle de l'ammoniaque

Nous avons cherché à déterminer si l'ammoniaque pouvait agir comme sensibilisateur vis-à-vis des albumines du sérum cancéreux. En réalité, le mécanisme d'action est analogue à celui que nous avons étudié pour les acides. Si l'on prend soin d'établir la courbe de précipitation selon la quantité de réactif ammoniacal on observe une courbe inverse de celle obtenue en faisant varier la quantité d'acide, c'est-à-dire que l'ammoniaque n'agit

qu'en neutralisant l'acide, en particulier le point d'inversion de la courbe correspond à la neutralisation du réactif azotique ; ceci confirme les expériences de Botelho lui-même.

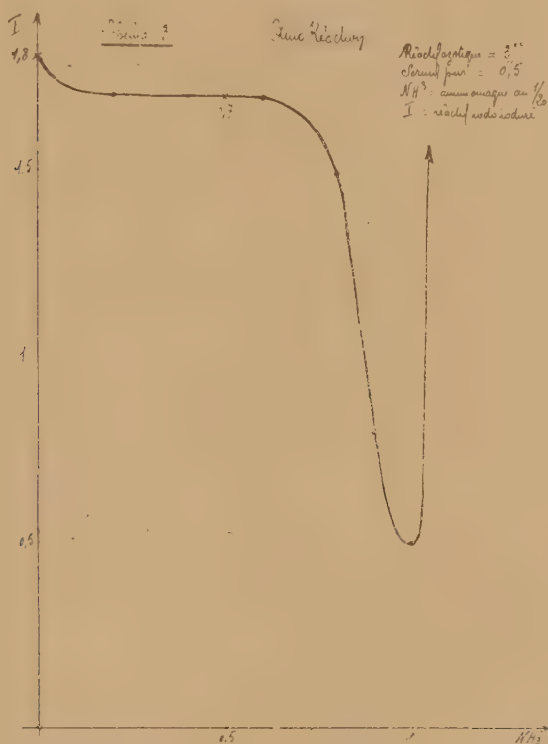


Schéma 3

En général dans la réaction à l'ammoniaque les sérums normaux commencent à précipiter avec un taux de réactif iodé moindre que dans la réaction azotique simple (ici 1 cc. 7 au lieu de 1 cc. 8) (voir schéma 3).

Or dans quelques cas nous avons vu le phénomène in-

verse se produire, il semble donc que des réactions secondaires peuvent intervenir : elles relèvent peut-être d'une modification structurale des albumines sous l'influence de l'ammoniaque entraînant des variations dans leur propriété de précipitation. Mais ceci n'est qu'une hypothèse de notre part.

\\ Rôle des sels

Les sels dans l'organisme cancéreux ont fait l'objet d'études nombreuses. WATERMAN (57) s'est attaché à rechercher et à doser le potassium dans les tumeurs. RENAUD, prétend que la teneur du sang des cancéreux en potassium et calcium est variable et inconstante. BEEBE* pense que le rapport du potassium est accru. Pour d'autres auteurs, LOEPER (32), en particulier, le sang reste pauvre en magnésie ; le chlorure de sodium est tantôt diminué, tantôt accru. Nous pouvions donc songer logiquement, qu'un excès de potassium ou un déficit de calcium dans les humeurs de l'organisme, créant la prédisposition au cancer ou le néoplasme lui-même, influencerait la réaction de Botelho dans un sens quelconque.

Nous avons étudié le sérum en ajoutant *in vitro* des quantités variables de différents corps (sels, acides aminés, etc) pensant amener par l'addition de ces corps une modification dans la teneur des éléments même du sérum apportant une modification au taux de précipitation.

Pour cela nous mettons 0,5 cc³ de sérum dans chacun des 10 tubes renfermant tous une quantité croissante d'eau

(*) Cité par Loeper (32).

afin d'avoir toujours une teneur de liquide équivalente dans tous les tubes ; nous ajoutons ensuite le corps à étudier en proportion aussi voisine que possible où ce corps se trouve à l'état normal dans l'organisme et nous observons nos résultats.

Nous avons examiné dix sérums d'après cette technique en prenant des solutions de chlorure de sodium, de carbonate de soude et de phosphate de soude à 0,50-1 gr. et 2 gr. % restant ainsi approximativement à la teneur des sels dans les sérums normaux.

L'addition de ces substances n'a fait que peu modifier le « Botelho ». Nous donnons ci-joint, à titre d'exemple, la courbe de précipitation pour le chlorure de sodium.

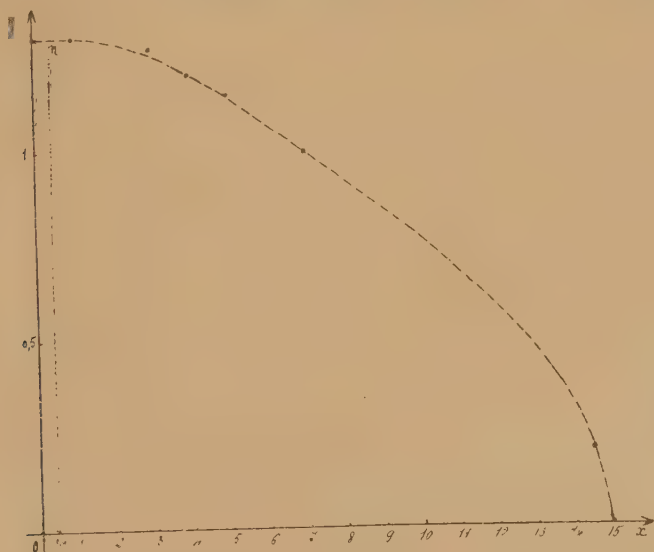


Schéma 4

x = quantité ‰ de chlorure de sodium en solution.

y = - de réactif iodé.

n = zone correspondante à la teneur normale du sérum en chlorure de sodium.

Pour agir sur le taux de précipitation iodée, la dose de sel employée doit être bien supérieure à la normale, ce qui enlève tout intérêt pour notre thèse.

L'étude des sels nous a conduit fatalement à celle des composés organiques.

CABANIS et FOULQUIER (7) prétendent qu'avec une réaction de Botelho positive, on trouve généralement des taux d'urée assez élevés et qu'avec une réaction négative les chiffres obtenus pour le taux de l'urée sanguine sont des chiffres normaux. Or, nous avons pu vérifier qu'expérimentalement à la dose de 0,50 et 1 gr. le sel ne modifie pas le « Botelho ». De plus, il nous a été donné de constater chez des malades de fausses réactions positives avec un taux d'urée normal ou inférieur à 0,50 et inversement nous avons vu des sérums de malades urémiques avec de fortes doses d'urée (3 à 4 gr.) rester négatifs. D'ailleurs, CABANIS et FOULQUIER (7'), à la suite de nouvelles observations, sont revenus de leur impression primitive et ils concluent que ce n'est pas l'urée qui est la cause de la réaction.

Les lipoïdes (cholestérine, lécithine) et les acides aminés, sont depuis longtemps isolés dans le sang des cancéreux. RAMOND* les a trouvés augmentés, de même CHAUFFARD*. Ces auteurs ont attribué cette augmentation lipoïdique à la désagrégation des fragments de la tumeur. Pour notre part, nous avons constaté, que à la dose de 0,005 milligrammes, le tryptophane ajouté à

(*) Cité par Lœper (32).

des sérums titrant 91 0/00 d'albumine totale rendait la réaction légèrement positive. La lécithine en solution extrêmement faible, 0,01 pour 5 c³ d'eau distillée, aurait tendance à la rendre négative, mais nous ne voulons donner ces résultats qu'à titre purement indicatif.

ACTION DES PROTÉIQUES.

Les protéines du sérum se composent de sérum albumine, sérum globuline, fibrine globuline ; l'hémoglobine intervient également dans certains cas en proportion extrêmement faible.

Ajouter à cela, les abuminoses, les peptones, les acides aminés et les diastases dont la qualité et la quantité sont encore du domaine de l'inconnu, mais dont le rôle, à n'en pas douter, est considérable et nous avons ainsi énuméré toutes les protéines du milieu sanguin.

Les recherches faites sur cette importante question nous ont appris que la teneur des sérums en albumine totale est des plus variables et les chiffres rapportés ne concordent que rarement. On admet généralement que le taux d'albumine varie de 70 à 80 0/00 à l'état normal. Chez les cancéreux, il est également inconstant. Pour SHUTZING*, GADE*, MOREL* et ROUBIER*, il y aurait hypoalbuminose.

Pour LOEPER (32), cette hypoalbuminose est loin d'être constante. Elle fait assez fréquemment place à une albuminose normale, dont la proportion, par rapport à la cachexie et à l'inanition, apparaît vraiment excessive, ce

(*) Cité par Lœper (32).

qu'il a appelé « l'albuminose paradoxale ». THEIS (53), par contre, trouve que les protéines du sang sont dans les mêmes proportions chez le cancéreux et l'individu normal. Nos recherches personnelles nous ont permis des constatations analogues.

Nous avons en effet pratiqué l'examen systématique de 330 sérums :

202 sérums non cancéreux donnant :

108		> 80 %	soit 53,5 %
88		< 80 %	» 43,5 %
6		= 80 %	» 3 %

et 128 cancéreux, donnant :

69		> 80	soit 54,5 %
57		< 80	» 44,5 %
2		= 80	» 1,5 %

Cependant, un auteur italien DELLA-ROSA (9) est venu infirmer ces faits récemment.

Chez 42 cancéreux et 7 malades atteints de tumeurs bénignes il a pratiqué l'examen des sérums à l'aide du réfractomètre de Pulfrich, suivant les données de Schiassi. Sur ces 42 cancéreux 8 seulement présentaient dans leur sérum une quantité d'albumine supérieure à 85 0/00 ; il a rencontré aussi fréquemment l'hyperalbuminose chez des sujets porteurs de tumeurs bénignes ; donc cet auteur trouve 8 sur 42 soit 19 % de sérums cancéreux à index supérieur à 85 0/00 alors que dans notre statistique nous avons constaté 37 cas sur 128, soit 29 %.

D'autre part, il est établi que les sérums des malades

atteints de néphrite chronique surtout du type hydropigène, ont des variations de la dilution sanguine sensibles. REISS* remarque l'abaissement de l'indice réfractométrique ; STRAUSS (50), VAUCHER (55) ont fait des constatations analogues. SAINT-GIRONS (48) démontre que tout œdème d'origine cardiaque détermine une hypoalbuminose du sérum. ENGEL (13) cite l'opinion de KOSEHER, qui a trouvé dans les maladies infectieuses une précoce et importante diminution du taux des albumines. De plus les albumines sont en poids l'élément de beaucoup le plus important du sérum (78 grs. sur 97 grs. 10 de résidu) On pouvait se demander si les variations de la teneur en albumine totale des sérums n'intervenait pas dans la réaction. En effet la courbe de précipitation, en fonction de la dose sérique, montre l'importance de la quantité de sérum sur la précipitation ; on peut donc supposer qu'un sérum dilué, c'est-à-dire contenant à volume égal une quantité d'albumine moindre qu'un sérum pur, précipitera avec un taux de réactif iodé moindre qu'un sérum normal : il devient donc au point de vue de la réaction équivalent à un sérum cancéreux. C'est ce que l'expérimentation et la clinique confirment pleinement.

Expérimentalement, il suffit d'opérer des dilutions progressives d'un sérum normal pour voir son taux de précipitation iodé s'abaisser parallèlement jusqu'à atteindre le taux du sérum cancéreux. (Voir schéma 5).

(*) Cité par Vaucher (55).

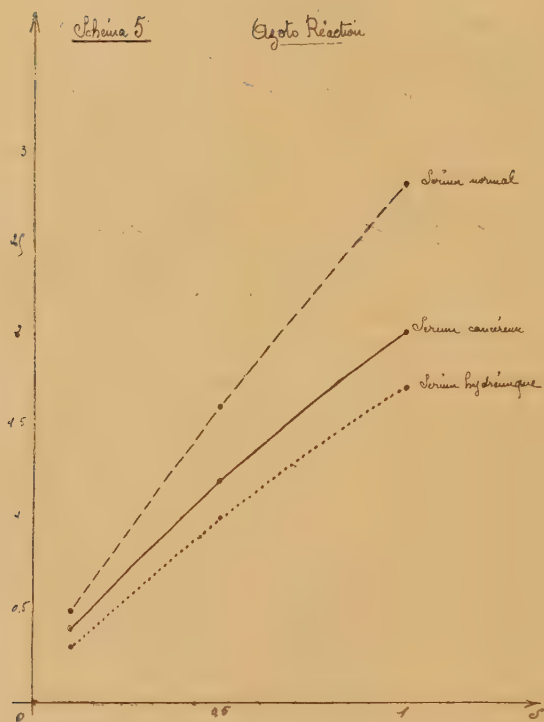


Schéma 5

Au point de vue clinique, nous avons déjà eu l'attention attirée par la fréquence des fausses réactions positives dans les cas de néphrite chronique surtout à type hydropigène ; soupçonnant le rôle de la dilution sanguine nous avons systématiquement pratiqué l'examen réfractométrique des sérums en utilisant l'appareil Féry grand modèle, dont nous avons donné la description dans notre premier chapitre ; les résultats sont venus confirmer entièrement nos prévisions à priori.

C'est ainsi que pour les sérums étudiés selon la technique (A. Z. R. 2) nous avons constaté qu'avec les sérums non cancéreux, sur 40 erreurs par fausses réactions positives, il y avait 36 sérums soit 90 % dont les index réfractométriques étaient inférieurs à 80 et inversement pour les sérums cancéreux sur 33 erreurs par fausses réactions négatives, il y avait 23 sérums soit 70 % dont l'index dépassait 80.

C'est donc, avec raison apparente que KAHN (d'Altona) (26) a cru pouvoir attribuer la réaction de Botelho « à la diminution des albumines hydrophiles ».

Récemment, un auteur italien PALMIERI (36) a fait les mêmes constatations : « Une telle précipitation ne peut se produire, dit-il en parlant du Botelho, que lorsque la teneur du sérum en albumine est au-dessous d'un certain titre ».

Le rôle de la teneur en albumine du sérum était donc nettement établi par ces faits ; mais pour compléter la démonstration nous avons déterminé les pourcentages de réactions justes pour tous ces sérums en fonction de leur index réfractométrique et en traduisant les résultats par un graphique, on obtiendrait approximativement une ligne droite, ce qui confirme encore les données antérieures.

Connaissant l'importance de la teneur en albumine et de l'index réfractométrique des sérums, nous ne pouvons suivre les différents auteurs, qui ont étudié la citro-réaction, dans leurs conclusions sur les fausses réactions positives qu'ils ont constatées au cours de diverses maladies.

C'est ainsi que CABANIS et FOULQUIER (7) affirment la constance des réactions positives dans l'urémie (15 cas) et dans la fièvre typhoïde (18 cas). De même, pour BLOUQUIER DE CLARET et BRUGAIROLLE (6) qui citent 5 cas d'urémie et 6 cas de fièvre typhoïde.

Par contre SABRAZÈS et MURATET (47) ne trouvent qu'une réaction positive sur trois cas de fièvre typhoïde et dans trois cas d'urémie respectivement à 0 gr. 83 et 0 gr. 93, et 3 gr. 25 d'urée sanguine, la réaction a été parfois négative.

Nous même avons eu, avec Botelho, maintes fois l'occasion de constater des faits analogues. Nous ne voulons rapporter qu'un cas particulièrement démonstratif. Dans un cas d'urémie à 1 gr. 70 d'urée, une première réaction faite sur le sérum dont l'index était à 64 donne une réaction positive, alors que quelques jours plus tard, le taux de l'urée étant le même, nous avons obtenu une réaction négative, mais alors l'examen réfractométrique révélait un index à 86 %.

On voit par là, tout l'intérêt qu'il peut y avoir à ne tirer des conclusions qu'après avoir établi l'index réfractométrique du sérum.

C'est au nom de ces mêmes faits que nous critiquons les conclusions de SABRAZÈS et MURATET (47) qui rapprochent de certaines modalités de néoplasies, les lymphosarcomatoses, la leucémie myéloïde chronique et la lymphocyémie chronique, parce qu'ils ont obtenu des réactions positives dans ces cas. Mais comme ils ignoraient l'index réfractométrique des sérums, quelle preuve avaient-ils qu'il ne s'agissait pas uniquement d'un simple état hydrémique du sérum ?

La connaissance de ces faits permet d'expliquer les constatations paradoxales faites sur un sérum donnant une réaction de Botelho positive, puis négative ou inversement au cours d'un même état pathologique. Ce paradoxe s'explique presque toujours par les variations d'index réfractométrique comme nous avons pu nous en assurer dans plusieurs cas.

Une malade atteinte d'éruption rubéoliforme à une première réaction négative avec un sérum à 83 et une seconde réaction positive avec un sérum à 72.

Dans un cas de néphrite chronique, le sérum d'abord à 64, donne une réaction positive, puis il passe à 70 et la réaction devient négative. Typique aussi ce cas de spirochétose ictéro-hémorragique où une première réaction est positive avec un sérum à 58, une seconde réaction négative avec le sérum à 87, enfin une troisième réaction redevient positive, l'index du sérum étant retombé à 64.

Pour ces multiples raisons, nous posons donc un principe absolu, c'est qu'on ne peut tirer de conclusion de la réaction de Botelho, qu'en connaissant l'index réfractométrique du sérum.

Comme notre statistique (p. 60) le démontre, dans près de la moitié des cas, un cancer peut s'accompagner d'hydrémie ou coexister avec un état hydrémique d'autre origine (néphrite associée) : la réaction de Botelho s'en trouve d'autant plus fortement positive ; mais l'hypoalbuminose ne saurait tout expliquer, puisque sur 128 sérums cancéreux nous en trouvons 69 hyperalbumineux.

Les réactions positives sont donc liées à d'autres facteurs humoraux que la seule teneur en albumines totales des sérums.

On en a une preuve convaincante dans les résultats variables obtenus par la méthode correctrice avec les divers sérums qui contiennent cependant la même quantité d'albumines, 80 0/00.

D'ailleurs des sérums, ayant même teneur en albumines totales, donnent des réactions différentes : positives pour les uns, négatives pour les autres.

Ces faits démontrent qu'il existe, dans la réaction de Botelho, d'autres éléments que nous allons essayer de mettre en évidence.

RAPPORT SÉRINE-GLOBULINE.

L'influence de l'albumine totale du sérum était établie. Nous nous sommes alors efforcés de rechercher quelles sortes d'albumines étaient susceptibles d'être influencées : la sérine ou la globuline ? Avant nous, divers auteurs s'étaient attachés à cette question. Gussio (23) trouve une augmentation du taux de la globuline, donc un abaissement du quotient albuminoïde d'Hoffmann, chez les cancéreux et dans d'autres maladies chirurgicales et médicales. FRY (16) du Cancer-Hospital de Londres, dans le *Bulletin de l'Association française pour l'étude du cancer*, rapporte les résultats de 25 dosages pratiqués sur des sérums cancéreux et conclut : « La réaction de Botelho ne dépend pas du pourcentage de globuline ni du taux d'urée ». FRY, ignorant le rôle de la teneur

en albumine totale dans la réaction, a négligé de comparer des sérums ayant même teneur en albumine totale. En prenant cette précaution, on peut confronter plusieurs résultats parmi ceux publiés par cet auteur (par exemple dans la liste des sérums cancéreux : cas 3, 19, 20 ; cas 1, 15, 14, 18 ; cas 11 et 24 ; cas 9, 8, 12). On constate alors très nettement que plus la teneur en globuline s'élève, plus la réaction devient positive. Mais il est juste de remarquer qu'avec d'autres sérums on ne retrouve plus cette concordance (cas 13, 21, 2, 10) ; d'ailleurs deux sérums (n° 8 et 9), ayant même teneur en albumine totale et en globuline, donnent l'un une réaction négative, l'autre une réaction positive. Sauf erreur de technique, c'est une démonstration très nette que d'autres facteurs interviennent, dans la réaction, pour les sérums cancéreux.

Pour juger vraiment de l'influence du rapport sérine-globuline sur la réaction, il fallait étudier d'abord les modifications survenues dans les résultats avec des sérums non cancéreux, selon le rapport sérine-globuline de ces sérums.

Pour poursuivre nos recherches, nous avons à notre disposition trois méthodes : deux sont basées sur la précipitation des albumines par l'acétone et utilisées par BIERRY et MOQUET, BIERRY et VIVARIO (5) d'une part, PIETTRE et VILA (39) de l'autre.

Nous résumons ici la technique de PIETTRE et VILA qui comporte deux opérations :

- a) Précipitation des albumines totales par l'acétone.
- b) Redissolution de la sérine par l'eau distillée.

Cette méthode a des avantages d'exactitude et la possibilité de garder intactes les autres substances du sérum en vue de recherches ultérieures. Malgré ces avantages chimiques, cette méthode nécessite une grande quantité de sérum et est d'une application très délicate ; aussi lui avons-nous préféré la méthode de précipitation par le sulfate de magnésie ou celle par le sulfate d'ammoniaque à une demi-saturation.

Précipitation des albumines totales. Dosages.

Nous avons eu généralement recours à la méthode indirecte réfractométrique : la quantité de sérum dont il nous fallait disposer ne nous permettant pas l'emploi de la méthode directe (dosage pondéral) d'une façon constante. Nous avons utilisé le réfractomètre de Ferry qui est d'une précision suffisante comme nous pensons l'avoir montré au chapitre premier.

Séparation de la sérine et de la globuline.

La méthode de HOFFMEISTER et de KUNDE (sulfate d'ammoniaque à demi-saturation) est celle que nous avons utilisée le plus couramment. Cependant, opérant sur du sérum humain, nous nous sommes trouvés limités par la quantité de sérum à employer, aussi opérons-nous la précipitation de 1 volume de sérum par 9 volumes d'une solution titrée de sulfate d'ammoniaque (300 gr. par litre, $D = 1,150$) ; le sulfate d'ammoniaque, selon ARMAND GAUTIER (3), à concentration de 250 grammes par litre, précipite complètement les globulines, à 336 grammes il commence à précipiter les albumines, les précipitant totalement à 472 gr. par litre.

Nous basant sur des travaux précédents poursuivis par GIRARD (17), sur le rapport globuline-sérine chez les syphiliques, nous prélevons un volume de sérum (5 c³ exactement mesurés à la pipette à deux traits) et dilué avec 9 volumes de solution, ce qui donne 270 grammes par litre de sulfate d'ammoniaque, chiffre éliminant toute possibilité de précipitation de sérum albumine.

Nous agitons le mélange soigneusement et nous le plaçons à l'étuve à 37° pendant 24 heures, pour décantation spontanée. La décantation spontanée nous a toujours donné des résultats infiniment supérieurs à la centrifugation, même poussée à de très grandes vitesses pour obtenir la précipitation des albuminoïdes.

Au bout de 24 heures la décantation est totale. Le liquide surnageant le précipité est alors prélevé de l'éprouvette au moyen de la pipette. Dans cette manipulation, il est nécessaire de prendre quelques précautions ; on évitera de sortir l'éprouvette de l'étuve, la différence de température pouvant provoquer la réémulsion partielle de la globuline et il faut se garder de la moindre agitation.

20 c³ du liquide prélevé (sérum-globuline) sont mis dans une fiole conique, dilués à 50 c³ d'eau et acidifiés par 5 gouttes d'acide acétique auquel on ajoute une petite quantité de chlorure de sodium en solution à 15 %. On fait coaguler : la coagulation totale étant obtenue, on filtre sur papier spécial (Durieu ou filtre rapide rouge) ; la filtration est très lente. On lave à l'eau distillée bouillante jusqu'à ce que l'emploi du réactif au nitrate d'ar-

SÉRUMS NORMAUX	N ^{os}	RÉACTION	RÉACTION	ALBUMINE TOTALE	SÉRINE	GLOBULINE	RAPPORT SÉRINE GLOBULINE
		NORMALE	CORRIGÉE				
Fibrome.....	1	—	—	86.5	73.5	13	5.653
Syphilis nerveuse..	2	—	—	86.5	66.5	20	3.325
Ulcère d'estomac...	3	—	—	75	56	19	2.947
Néphrite syphilitiq.	4	++	—	73	50	23	2.173
Métrite.....	5	—	—	81.5	55	26.5	2.075
Sujet normal.....	6	—	—	88	58	30	1.933
Brides stomacales..	7	—	—	81.5	53.5	28	1.910
Néphrite	8	+	—	69	44.5	24.5	1.816
Eczéma	9	+++	—	66	41	25	1.640
Sujet normal.....	10	—	—	94.5	57.5	37	1.554
Hémiplégie.....	11	—	+	93	54	39	1.384
Insuffisance cardiaq.	12	—	+	93	51.5	41.5	1.240
Syndrome de Ray- naud	13	—	+	93	51.5	41.5	1.240
Adénopathie ingui- nale.....	14	+	++	87	39	48	0.812
Hépto-splénoméga- lie.....	15	—	+	90	37	53	0.698
Maladie de Hogdkin.	16	—	+	81.5	22	59.5	0.369
Foie cardiaque.....	17	—	+	93.5	24.5	69.5	0.355

SÉRUMS CANCÉREUX	Numéros	RÉACTION NORMALE	RÉACTION CORRIGÉE	ALBUMINE TOTALE	SÉRINE	GLOBULINE	RAPPORT SÉRINE GLOBULINE
Cancer du colon sig- moïde.....	1	+ + + +	+ + + +	78	22 5	55.5	0.405
Cancer du rhino- pharynx.....	2	+	+	82.5	29	53.5	0.551
Cancer du corps de l'utérus.....	3	—	—	83.5	30	53.5	0.560
Cancer du sein....	4	+	+ +	85	30.5	54.5	0.559
— de l'estomac	5	+ + +	+ +	70	27	43	0.627
— végétant du col de l'utérus...	6	—	+	90	35.5	54.5	0.651
Cancer de la face..	7	+	+ + +	82	33	49	0.673
— du sein.....	8	—	+ +	90	42	48	0.875
— du col utérus	9	—	—	85	41	44	0.931
— de la langue.	10	—	+	94	46	48	0.958
Sarcome de la jambe	11	—	+ +	99	53.5	45.5	1.175
Cancer de l'oreille baso cellulaire...	12	—	—	79.5	43 5	36	1.208
Cancer du col de l'utérus.....	13	—	+	96	53	43	1.232
Cancer du sein forme squarreuse..	14	+	—	70.5	40	30 5	1.311
Cancer du col de l'utérus.....	15	—	+	93.5	53.5	40	1.34
Cancer de l'estomac	16	—	+	86	53	33	1.606
Cancer du sein, in- tra-canaliculaire..	17	—	—	97	60	37	1.621
Cancer du col de l'utérus.....	18	—	+	84.5	53	31.5	1.682
Cancer du col de l'utérus.....	19	—	+	84	53	31	1.709
Cancer du col de l'utérus.....	20	—	+	85	55	30	1.833
Cancer du col utérin	21	—	+	101	66	35	1 885
— du sein.....	22	+ +	+ +	79 5	53	26.5	2
— de la langue.	23	—	+	86 5	58.5	28	2.089
— du col de l'utérus.....	24	—	+ +	86	67	19	3.526
Cancer du col de l'utérus.....	25	—	+ +	86.5	71 5	15	4.766
Cancer du pancréas.	26	+ +	+	75 5	65.5	10	6 55

gent ne décèle aucun trouble, puis à l'éther et à l'alcool pour redissoudre les graisses, la cholestérine et la lécithine ; le filtre, ainsi lavé et sec, est mis à l'étuve à 110° pendant 24 heures. A sa sortie de l'étuve, le placer dans un dessiccateur (présence de Cal²), puis le peser.

La quantité de sérine retranchée de la quantité totale d'albumine nous donne par différence la teneur en globuline.

L'étude comparative des résultats obtenus dans nos dosages et consignés dans les deux tableaux ci-joints permet de constater un fait : comme le montre le tableau des sérums non cancéreux, *la réaction est d'autant plus fortement positive que la teneur du sérum en*

globuline augmente, donc que le rapport $\frac{\text{sérine}}{\text{globuline}}$ s'abaisse.

Nous avons cherché à approfondir ce mécanisme ; en particulier nous avons voulu nous assurer si l'abaissement du taux de précipitation iodé qui caractérise les réactions positives était lié réellement à un pouvoir précipitant plus marqué des globulines du fait de l'accroissement de leur quantité.

Dans ce but, nous avons étudié le taux de précipitation iodé des sérums en les ramenant à des teneurs constantes (40 0/00 de globuline et 40 0/00 de sérine). Pour cela nous avons conservé les sérums en expérience, en tubes scellés à la lampe jusqu'au moment où nous pouvions connaître par les techniques exposées précédemment leur teneur en sérine et en globuline.

A ce moment, nous nous assurons que l'index réfractométrique de sérum ne s'était pas modifié, non plus que le résultat de la réaction de Botelho.

Nous avons alors pratiqué, pour chaque sérum, deux réactions de Botelho selon une technique voisine de l'auto-correction.

Comme pour celle-ci on emploie 3 c³ de réactif azotique.

La quantité de sérum à utiliser pour avoir une teneur constante de 40 o/oo en sérine ou en globuline est indiquée par la formule suivante :

$$S = 0,5 \times \frac{40}{x}$$

Dans laquelle :

S = quantité de sérum à utiliser.

x = quantité de globuline ou sérine pour o/oo du sérum.

Supposons un sérum d'index I (teneur en albumine totale) contenant une quantité de sérine (i) et de globuline (i'), telle que $I = i + i'$

On utilisera dans chaque tube une quantité de sérum indiquée par la formule ci-dessus.

Dans le 1^{er} tube où l'on désire avoir 40 o/oo de sérine,

$$S = 0,5 \times \frac{40}{i}$$

Numéros	DIAGNOSTIC	I. R.	GLOBULINE	SÉRINE	QUANTITÉ DE SÉRINE POUR 40 0/00 DE GLOBULINE $S = \frac{1}{1} \times 40$	TAUX DE PRÉCIPITATION	QUANTITÉ DE GLOBULINE POUR 40 0/00 DE SÉRINE $R = \frac{1}{1} \times 40$	TAUX DE PRÉCIPITATION
CANCERS								
2	Cancer du rhino-pharynx.....	82.5	53	29.5	22.26	1.1	71.96	2.1
3	Cancer du corps de l'utérus.....	83.5	53.5	30	22.42	1.2	71.33	2
4	Cancer du sein.....	85	54.5	30.5	22.38	1	71.47	1.9
5	Cancer de l'estomac.	70	43	27	25.11	1	63.70	1.9
11	Sarcome de la jambe	99	45.5	53.5	47.03	1.5	34.01	1.3
14	Cancer du sein (forme squirrheuse).	70.5	30	40.5	54	1.8	29.62	1.3
18	Cancer du col de l'utérus.....	84.5	31.5	53	67.30	2	23.77	1
19	Cancer du col de l'utérus.....	84	31	53	68.38	1.9	23.39	1.1
20	Cancer du col de l'utérus.....	85	30	55	73.33	1.8	21.81	1.1
25	Cancer du col de l'utérus.....	86.5	15	71.5	190.66	4	8.39	0.9
NON CANCERS								
3	Ulcère d'estomac.	75	19	56	117.89	2.9	13.57	1.1
4	Néphrite syphilitiq.	73	23	50	86.95	2.3	18.40	1.05
9	Eczéma.....	66	25	41	65.6	2.1	24.39	1.4
14	Adénopathie inguinale.....	87	48	39	32.5	1.3	49.23	1.55
17	Foie cardiaque.....	93.5	69	24.5	14.20	0.8	112.65	2.5

Dans le 2^e tube où l'on désire avoir 40 o/oo de globuline.

$$S = 0,5 \times \frac{40}{i}$$

On ajoute enfin le réactif iodé par dose progressive 0,5 + 0,2 + 0,2, etc., jusqu'à précipitation nette et persistante. La quantité de réactif iodé utilisé caractérise le taux de précipitation.

Selon la quantité de sérum utilisée, il est aisé de calculer la quantité de globuline ou de sérine intervenant dans chaque tube. Ainsi dans le premier tube avec une quantité équivalente à 40 o/oo de sérine la quantité de globuline utilisée est $g = \frac{i}{i'} \times 40$.

De même dans le deuxième tube avec la quantité de sérine équivalente à 40 o/oo de globuline, la quantité de sérine utilisée est : $s = \frac{i}{i'} \times 40$.

Connaissant ces valeurs (voir le tableau ci-joint), il serait aisé d'établir un graphique où l'on porterait pour chaque sérum son taux de précipitation iodé en fonction des quantités utilisées de sérine ou de globuline.

En réunissant ces points, on obtiendrait le graphique des précipitations sériques d'une part selon la teneur en globuline, alors que la teneur en sérine reste constante, d'autre part, selon les variations de la teneur en sérine, alors que la teneur en globuline reste constante (40 o/oo). On constaterait alors que les deux graphiques se ramè-

nent approximativement à deux droites presque superposables. Ainsi plus la teneur en sérine des sérums augmente, toutes choses égales d'ailleurs, plus le taux de précipitation iodé s'élève et plus la réaction devient négative.

Même constatation pour la globuline : plus la teneur en globuline augmente plus le taux de précipitation iodé s'élève et plus la réaction devient négative.

Si la réaction positive ne dépend pas directement de l'augmentation des globulines du sérum comment l'expliquer ?

Nous croyons, pour notre part, qu'on ne peut dissocier ainsi artificiellement les propriétés sérine-globuline aux dépens de l'une ou de l'autre pour n'attribuer qu'à l'une d'elles certaines fonctions physico-chimiques.

L'une et l'autre de ces albumines sériques ont donc des propriétés stabilisantes ou labilisantes qui se font équilibre normalement et qui assurent la stabilité du milieu sérique.

En particulier, pour interpréter cette floculation plus facile des sérums à forte teneur en globuline nous croyons que l'on doit tenir compte autant des sérines que des globulines ; si ces dernières par leurs fortes proportions, tendent, comme nous l'avons vu, à stabiliser le milieu sérique, les premières, de par leurs faibles quantités, tendent, à favoriser son pouvoir précipitant. C'est donc de l'équilibre même sérine-globuline que dépendra la précipitation ou non du sérum : ainsi le rapport

$\frac{\text{sérine}}{\text{globuline}}$ ne traduit pas seulement une simple en-

tité mathématique, il identifie une relation physico-chimique entre les albumines constituant les sérum.

Mais, en dehors de cette constatation d'ensemble on peut cependant noter dans le détail de légères divergences qui démontrent que *l'élévation des globulines ne suffit pas à expliquer tout le mécanisme de la réaction de Botelho* ; ces discordances, légères pour les sérums non cancéreux, deviennent encore plus nettes avec les sérums cancéreux (voir tableaux précédents), où il semble bien qu'interviennent d'autres facteurs.

Quels peuvent être ces facteurs qui expliquent le déséquilibre sérique ? Nous entrons dans le domaine de l'hypothèse.

Cependant pour préciser le mécanisme de la réaction, nous pouvons nous appuyer sur des expériences d'un autre auteur ; FISCHER (14, etc.) a établi que l'action des charges électriques joue un rôle important dans l'équilibre colloïdal sérique et il conclut que dans le sérum cancéreux ce sont les globulines qui ne jouent plus leur rôle.

Il ajoute ailleurs que la globuline des cancéreux est dans un état identique à la globuline déstabilisée par les charges électriques positives ; il s'en suit que toutes causes déstabilisantes électriques ou autres agiront plus intensivement sur la globuline des cancéreux et sur leur sérum que sur la globuline et les sérums des sujets normaux.

Or, la réaction de Botelho traduit une labilisation des sérums cancéreux qui pour des doses égales de réactifs précipitants, donne une précipitation des colloïdes,

alors que les sérums normaux restent clairs. C'est ainsi que pour FISCHER (14'), « l'instabilité des protéines des sérums cancéreux est l'explication de l'action de la solution iodo-iodurée dans la réaction de Botelho ».

On sait par ailleurs, que la facilité de précipitation des sérums varie parallèlement aux charges électriques : plus les charges augmentent plus la stabilisation s'accroît et inversement. C'est au point iso-électrique que la stabilité est minima (MICHAELIS, LOEB).

Il n'est pas illogique de penser que les charges électriques des colloïdes sériques jouent un rôle important dans les modalités de précipitation qui président la séro-réaction de Botelho. D'autre part, divers auteurs déterminant expérimentalement le p. H. intra-cellulaire et le déplacement du point iso-électrique chez des animaux porteurs de tumeurs ont constaté un déplacement très marqué chez les animaux cancéreux. Ces déductions expliqueraient les phénomènes d'inversion des charges électriques des globulines signalés par certains chimistes. En faveur de cette hypothèse plaident les recherches de PELET (37) : il a constaté que certaines substances seules (polyiodures et matières colorantes acides) ont le même pouvoir précipitant que la solution iodo-iodurée. Tels sont l'iodure double de cadmium et potassium, les solutions aqueuses de ponceau cristallisé, d'orange G, le jaune naphтол, la satoglucine, etc. Or, ces corps présentent des propriétés physico-chimiques communes (charge électrique négative entre autres).

Ou bien s'agit-il de modification du rapport lipoprotéique qui est une caractéristique du sérum cancéreux

d'après FISCHER (14'). Déjà LOEPER (32) avait signalé l'augmentation des lipoides non cholestériniques dans les sérums cancéreux.

Enfin des nucléoprotéïdes jouent-ils un rôle dans la réaction ?

Ce sont des recherches ardues et longues qu'il faudrait entreprendre, car, pour obtenir des faits comparables, il faut avoir des dosages ou des mesures effectuées sur des sérums ayant même teneur en albumine totale

et mieux même rapport $\frac{\text{sérine}}{\text{globuline}}$

Ce sont là des circonstances exceptionnelles et qui exigeront des centaines d'opérations avant de pouvoir réunir un nombre de cas suffisants, pour tirer des conclusions.

Conclusions

Au cours de notre travail nous avons pu mettre en évidence dans la réaction de Botelho plusieurs facteurs importants :

1. Le rôle incontestable de l'albumine, d'une importance telle que Botelho a dû mettre au point une nouvelle technique permettant d'opérer sur des sérums ayant même teneur en albumine totale. La *réaction non corrigée* de Botelho nous a donné un pourcentage de 60 % dans les cas de cancers et 31 % d'erreurs dans les non cancers, alors que la *réaction corrigée* nous a donné 80 % dans le cancer et 13 % de fausses positives chez les non cancéreux. C'est la méthode de séro-diagnostic avec correction réfractométrique, la seule parmi les différentes techniques proposées qui retiendra notre attention.

2. Le rôle des constituants des albumines sériques : le
sérine
rapport $\frac{\text{---}}{\text{globuline}}$ qui semble influencer la réaction.

3. La constatation au cours de nos recherches d'un troisième facteur déterminant le précipité déclenché dans le sérum cancéreux par le réactif iodo-ioduré. Mais sur ce dernier nous ne pouvons que reposer les hypothèses précédemment émises.

4. Il est incontestable que la réaction de Botelho ne saurait donner toute satisfaction aux chimistes, car il lui manque la spécificité propre à toute méthode chimique ; elle est cependant parmi toutes les méthodes proposées jusqu'ici, pour le séro-diagnostic du cancer, celle qui donne de meilleurs résultats (80 %) : elle est de plus d'une technique simple et d'une pratique de laboratoire courante. Son étude expérimentale nous a permis de reconnaître l'intérêt considérable de cette méthode sérologique dans la mise en évidence de certains troubles humoraux.

5. Enfin la conclusion pratique de ce travail est qu'en présence d'une réaction de Botelho positive un examen plus complet tant chimique qu'histologique s'impose, car on peut se trouver en présence d'un néoplasme latent qui ne se révèle encore par aucun signe clinique.

Nous croyons donc avoir fait œuvre utile en ayant mis ainsi en évidence ces différents facteurs de cette réaction et son intérêt pratique. Nous pensons avoir ouvert la voie pour les recherches qui, peut-être dans l'avenir, viendront préciser d'une façon complète le mécanisme de la réaction de Botelho et activer les progrès réalisés dans les difficiles sentiers de la sérologie cancéreuse.

Vu le Doyen,

RADAIS.

Vu le Président,

GRIMBERT.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

LAPIE.

Bibliographie

1. ABDERHALDEN. — *Deutsche Medizin. Wochen*, n° 7, p. 316, 1914.
2. ACHARD. — Densimétrie et réfractométrie du sérum. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27-7, p. 247, 1912.
- 2'. — Mécanisme régulateur de la composition du sang. — *Presse Médicale*, p. 133, 11 septembre 1901.
3. ARMAND-GAUTIER. — Leçons de chimie physiologique, p. 97.
4. ASCOLI et IZAR. — *Münch. Med. Woch.*, p. 403-406, n° 8, p. 1170-1183, n° 22, 1910.
5. BIERRY et VIVARIO. — Dosage des albumines du plasma sanguin. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1923.
6. BLOQUIER DE CLARET et BRUGAIROLLE. — Le séro-diagnostic du cancer par la réaction de Botelho. — *Gazette des Hôpitaux*, n° 45, p. 745, 3-5 juin 1924.
7. CABANIS et FOULQUIER. — Sur un nouveau procédé de séro-diagnostic du cancer. La réaction de Botelho. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, T. LXXXVIII, p. 1011, 1923.
7. CABANIS et FOULQUIER. — Etude sur un nouveau procédé de séro-diagnostic du cancer. — Imprimerie « La laborieuse », Nîmes, 1923.

8. CHIRAY et DEMANCHE. — Valeur des indications fournies par le réfractomètre dans la mesure du sérum sanguin et des sérosités pathologiques. — C. R. Société de Biologie, p. 325, 1917.
9. DELLA ROSA. — L'hyperalbuminose du sérum sanguin chez les malades atteints de tumeurs malignes et bénignes. — *Archivio di patologia e clinica medica*, Bologne, T. II, fas. 6, décembre 1923.
10. DIAMANT. — Contribution à l'étude du séro-diagnostic du cancer. — Thèse médecine, Paris, 1925.
11. ELBAZ GASTON. — La séro-réaction dans le diagnostic du cancer. — Réaction de Botelho. — Thèse Médecine, Alger, 1923.
12. ELSBERG. — *Jour. of the Amer. Méd. Ass.*, n° 12, p. 1036-1067, 1909.
13. ENGEL. — Klinische Untersuchungen über den Refraktions Koeffizienten des Blutserums. — *Berl. Klin. Wochenschrift*, n° 21, p. 653 à 657, 27 mai 1907.
14. FISCHER ROGER. — *Bull. Académie de Médecine*, Tome LXXXIX, p. 71, Paris, 1923.
- 14' — La Prostaxie et le Séro-Diagnostic du Cancer. — *Néoplasmes*, Paris n° 3, T. II, p. 129, mai-juin 1925.
- 14'' — Equilibre colloïdal des sérums normaux et pathologiques. — C. R. de la Soc. de Biol., p. 958, 28 octobre 1922.
- 14''' — Electrophorèse du sérum et sens de la migration du Complexe Globuline-Albumine. — C. R. de la Soc. de Biol, T. LXXXVIII, p. 125, 19 mai 1923.
15. FREUND et KAMINER. — *Wien. Klin. Woch.*, n° 34, p. 1221, 1910.

- 16 FRY. — Réaction de Botelho dans le Séro-Diagnostic du Cancer. — *Bull. du Cancer.*, T. XIV, p. 52, n° 1, janvier 1925. — Travail du laboratoire de l'Institut impérial de recherches sur le Cancer.
- 17 GIRARD. — Recherches sur les Variations du rapport globuline du sérum sanguin au cours de sérine quelques états pathologiques. — Thèse de Médecine, Paris, 1924.
- 18 GLEY. — Précis de Physiologie. — Du sérum humain.
- 19 GORECKI et GRODZKI. — *Archives polonaises de Médecine Interne*, T. III n° 1, p. 19, 1925.
- 20 GUÉRIN P. et M. — A propos de la Réaction de Botelho dans le Séro-diagnostic du Cancer. — C. R. Soc. de Biol., T. LXXXVIII, p. 1248, 1923.
- 21 GUIART et GRIMBERT. — Précis de Diagnostic.
- 22 Mlle GUILLERMET. — Rapport entre l'indice de réfraction et la teneur en albumine. — Thèse de Médecine Lyon, 1925.
23. GUSSIO. — Sur la signification biologique et la valeur diagnostic du quotient albumineux du sérum chez les cancéreux. — *Tumori*, f. 1, p. 1, 5 août. 1923.
24. K. ITCHIKAWA (de Sapporo) et SM. BAUM (de New-York). — Etude expérimentale du cancer chez le lapin. — *Bull. du cancer*, T. XIII, n° 1, p. 27, janvier 1924.
25. ITCHIKAWA, NAKAHARA et UWATOKO. — *Bull. du cancer*, T. XIII, n° 5, mai 1924.
26. KAHN H. (d'Altona). — Le diagnostic différentiel des tumeurs malignes à l'aide de quelques gouttes de sang. — *Klinisch. Woch.*, Berlin, Tome III, n° 20, 20 mai 1924.

27. KELLING. — *Wien. Klin. Woch.*, n° 3, p. 90-93, 1911.
— *Versant. deut. Naturforcher-Dresden*, 15-21 sept. 1907.
28. KNIPFER. — Recherches réfractométriques sur le sérum cancéreux. — *Rassigna internazionale di Clinica Terapia*, n° 9, 30 sept. 1922.
29. KOTTMANN. — *Correspondz. Blatt. fur Schweizer Aertze*, n° 12-20, 1917.
30. KREIBICH. — Ueber die Refraktometrische Werte des Blutserums. — *Folia Haematologica Leipzig*, p. 795, 1907.
31. LAVEDAN, — L'utilisation des modifications sérologiques dans le diagnostic du cancer. — *Paris-Médical*, n° 8, p. 185, 21 février 1925.
32. LOEPER, FORESTIER et TONNET. — *Presse Médicale*, n° 34, 1921 et *Paris-Médical*, n° 8, 2 fév. 1925.
33. MERLINI. — Sur le séro-diagnostic des tumeurs malignes ; index antitryptique et réaction de Botelho. — *Il Morgagni*, T. XVII, n° 42, 18 octobre 1925.
34. MICHELI et GANELLI. — Contributo alla reazione di Botelho per la siero diagnosi del cancro. — *Il Policlinico*, fas. 15, 13 avril 1925.
35. NATHER et ORATOR. — Recherches sérologiques réfractométriques sur le cancer et pré-disposition du cancer. — *Mitteil. Grenzgeb. Med. Chir.*, T. XXXV, f. 5, 1922.
36. PALMIERI. — Interprétation de la réaction de Botelho pour le diagnostic du cancer. — *La Rassegna di Clinica e Terapia*, T. V, 6 juin 1924.
37. PELET. — Recherches expérimentales sur le séro-diagnostic du cancer au moyen de la réaction de Botelho. — Thèse de Médecine, Lausanne, juin 1924.

38. PEYRE. — *Bull. Méd. Paris*, n° 40, p. 1072, 1924.
39. PIETTRE et VILA. — Séparation de la sérine et de la globuline du sérum sanguin. — Académie des sciences, 1924.
40. PUECH. — Etude des albumines du sérum et recherches sur les modifications de leur taux dans les maladies par la viscosimétrie et la réfractométrie. — Thèse Médecine Montpellier, 1924.
41. PROFESSEUR REMOND et SENDRAIL. — Diagnostic sérologique du cancer. — *Gaz. Hôpitaux*, n° 71, p. 1173, 2 sept. 1924.
42. RETEL. — Etude expérimentale de la réaction de Botelho sur le rat. — Thèse médecine, Paris 1925.
43. ROFFO. — La réfractométrie dans le cancer. — *La Prensa medica Argantica*, Buenos-Aires, T. XI, 30 juillet 1924.
44. ROSSI. — *La Rassigna di Obstetrica et Ginecologia*, n° 4, 5, 6, 1924.
45. ROUSSY et PEYRE. — A propos de la réaction de Botelho dans le diagnostic du cancer. — *Bull. du cancer*, T. XIV, n° 1, janvier 1925.
46. RUBINSTEIN. — Traité de sérologie et de sérodiagnostic, p. 402.
47. SABRAZES et MURATET. — Contribution à l'étude de la réaction de Botelho dans le sérum sanguin des cancéreux et des sujets atteints de leucémie chronique et subaiguë. — *Arch. des maladies du cœur, des vaisseaux et du sang*, n° 12, décembre 1923.
48. SAINT-GIRONS. — Les albumines du sérum sanguin au cours des maladies infectieuses, leurs variations cycliques. — Thèse Médecine, Paris 1913.

49. SIMON et THOMAS. — *Journal of exper. med.*, p. 673-689, 1908.
 50. STRAUSS. — Démonstration der refracktomet. Blutuntersuchungen. — *Verein. f. inn. Medizin.*, Berlin, 19 décembre 1904.
 51. STRAUSS et CHAJES. — Refraktometrische Eiweissbestimmungen an menschlichen Blutserum, und ihre Klinische Bedeutung. — *Zeitschrift für Klin. Med.*, B. L. II, p. 536-551, 1904.
 52. STRUBELL. — Ueber eine neue methode der Urin und Blutuntersuchung. — *Verhandlungen der 18^e Congresses f. innere Med.*, p. 417, Wiesbaden, 1900, et *Deutsch. Arch. f. Klin.*, T. LXIX, 1901.
 53. THEIS. — Les protéines du sang dans le cancer. — *Journal of cancer Research.*, T. VI, n° 2, 1922.
 54. THOMAS et BINETTI. — C. R. de la Soc. de Biol., T. LXXXVI, p. 29, 1922. — Le diagnostic sérologique du cancer. — *Les néoplasmes*, T. I, n° 2, p. 55, 15 mars 1922.
 55. VAUCHER. — L'hydrémie des brightiques et des cardiaques oedémateux. — Thèse Médecine, Paris, 1911.
 56. WAGNER. — Dissertation, Iéna, 1903.
 57. WATERMANN. — Contribution à l'étude physico-chimique des tumeurs. — *Bulletin de l'Association française pour l'étude du cancer*, T. XII, n° 2, p. 155, février 1923.
 58. WEICHARDT. — *Berlin. Klin. Wochensch.*, n° 20, 1908. — *Mediz. Klinik*, n° 12, 1909.
 59. WILBOUCHEVITCH. — Sur un nouveau procédé de séro-diagnostic du cancer. — C. R. de la Soc. de Biol., T. LXXXVII, p. 1.3339, 1922.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	11
CHAPITRE I. — Historique de la réaction de Botelho	
I. Citro réaction	18
II. Azoto réaction	24
III. Ammo réaction	27
CHAPITRE II — Méthode de séro-diagnostic avec correc- tion réfractométrique	
I. Méthode de correction dite hétéro correction .	31
II. — — — auto correction...	33
Technique de l'examen réfractométrique des sérums.....	36
Discussion sur les limites d'erreur dans la déter- mination réfractométrique des sérums.....	40
Discussion sur la valeur des méthodes correctives (auto ou hétéro).....	41
La réaction de Botelho chez l'animal	44
CHAPITRE III. — Essais sur le mécanisme chimique de la réaction.....	
Principe pratique de la méthode.....	46
Rôle des acides	53
Rôle de l'ammoniaque.....	54
Rôle des sels.....	56
Action des protéiques.....	59
Rapport sérine-globuline.....	66
Hypothèses sur les autres facteurs ..	77
CONCLUSIONS ..	80
BIBLIOGRAPHIE	82

